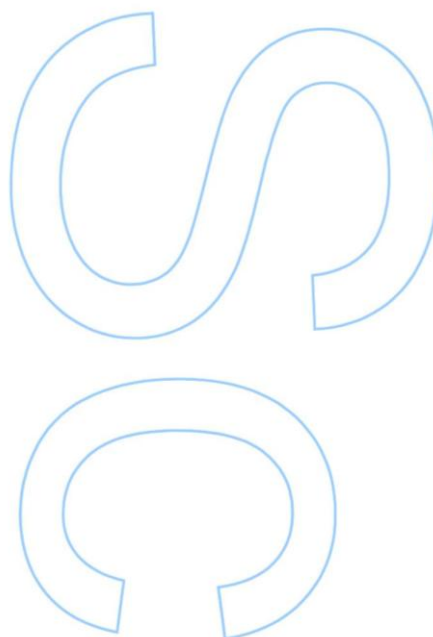
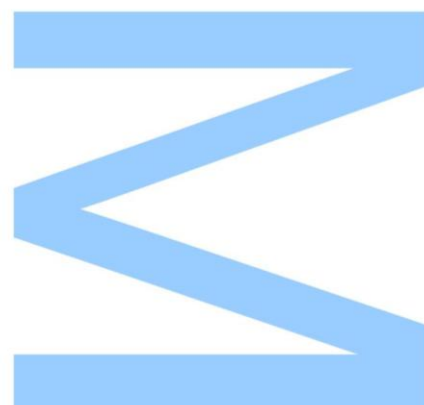


# Caracterização da composição do leite numa empresa de lacticínios

Francisco José Correia Alves

Dissertação de Mestrado em Tecnologia e Ciência  
Alimentar apresentada à Faculdade de Ciências  
da Universidade do Porto e à Escola de  
Engenharia da Universidade Minho

2018





# Caracterização da composição do leite numa empresa de lacticínios

Francisco José Correia Alves

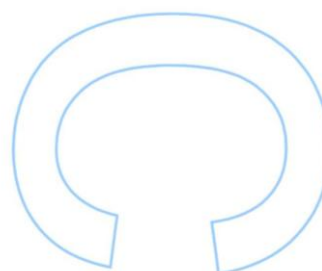
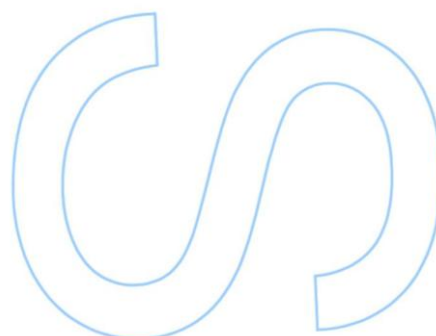
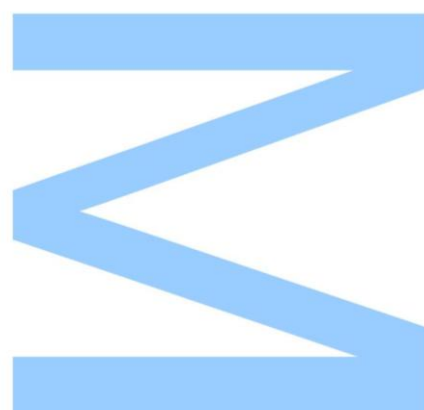
Mestrado em Tecnologia e Ciência Alimentar

Departamento de Química e Bioquímica  
2018

Orientador

Victor Armando Pereira Freitas  
Professor Catedrático  
Faculdade de Ciência e Universidade do Porto

Francisco José Correia Alves - Dissertação de Mestrado





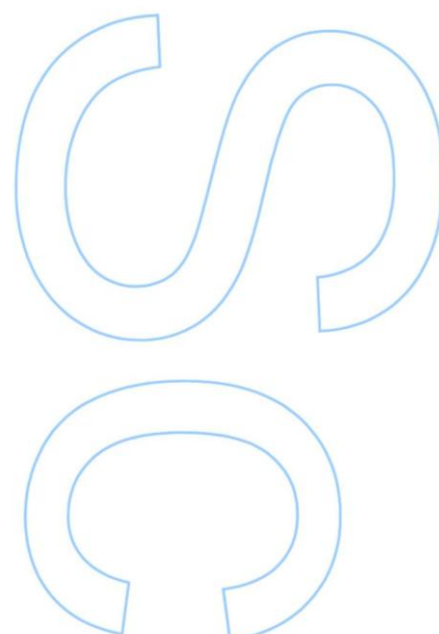


**Universidade do Minho**  
Escola de Engenharia

Todas as correções determinadas  
pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_





## Agradecimentos

Primeiro, gostaria de agradecer ao Professor Doutor Victor Freitas por me acolher e demonstrar toda a sua disponibilidade neste processo. De seguida, gostaria de agradecer ao engenheiro Ricardo Valente por ter facilitado a minha entrada na empresa e prestar todo o serviço necessário para a realização deste trabalho.

Um enorme agradecimento à engenheira Marlene e engenheira Célia por todo o acompanhamento, esclarecimentos de dúvidas, apoio, tanto no laboratório como no trabalho de campo, sendo por isso a sua ajuda fundamental para a execução deste estudo.

Agradeço à entidade de acolhimento a Lacticínios Paiva e ao Dr. Sequeira por me ter possibilitado à realização do estágio.

Aos meus pais, irmão e cunhada por todo apoio ao longo da minha vida académica, pelas oportunidades que me proporcionaram e todo amor possível que me têm dado ao longo da minha vida.

Às amigas Marie-line Santos e Marlene Machado, por estarem sempre presentes na minha vida académica, por serem a minha maior companhia nestes 5 anos e toda ajuda que dispensaram.

À Inês Rodrigues por estar sempre presente na minha vida e proporcionar momentos inesquecíveis ao seu lado.

Um breve especial agradecimento a toda a minha família, principalmente aos meus primos Nuno Alves e Catarina Alves, por me apoiarem em todas as decisões.

Por fim, um agradecimento especial à minha afilhada Rita Maio, que apesar de ser uma presença recente, demonstra-se uma pessoa prestável para todas as minhas indecisões e acreditar nas minhas capacidades.





## Resumo

Atualmente, as escolhas alimentares são muito variadas, é importante saber quais são mais adequadas e quais mais afetam a saúde humana. O leite sempre constituiu uma das principais fontes de energia e de obtenção de nutrientes. A tendência mundial no consumo do leite tem vindo a aumentar, devido à impulsão do desenvolvimento por parte dos países asiáticos. Em Portugal, tanto a produção como o consumo tem sido estável nos últimos anos.

O leite integra vários produtos, sendo em muitos casos a base da estrutura para o processamento para outros alimentos. É um alimento com uma composição muito variada, a sua análise tem sido alvo de vários estudos. A compreensão da sua incidência na saúde pública é importante devido a sua variabilidade, o seu conteúdo proteico também demonstra importância para o processamento tecnológico. No setor leiteiro, a produtividade e os valores da composição nutricional do leite são critérios que os produtores têm em consideração elevada pois são a partir destes que irão obter o lucro. Desta forma, entender os fatores que levam alterações nos constituintes do leite é fulcral para se poder melhorar a eficiência dos resultados. Por isso, o estudo da alimentação animal, as condições ambientais, o bem-estar animal e outros pontos envolvidos demonstram interesse para a finalidade de tal.

O estudo deste trabalho advertiu para o levantamento das características da silagem de milho proveniente de seis produções leiteiras, e como estas podiam alterar a constituição do leite. Conclui-se que apenas a proteína bruta da silagem de milho teve influência na proteína do leite e nenhum dos restantes componentes teve ação no leite.

**PALAVRAS-CHAVE:** Leite; Alimentação Animal; Bovinos.



## **Abstract**

Currently, food choices are very varied, it is important to know which are the most appropriate and which most affect human health. Milk has always been a major source of energy and nutrients. The trend in milk consumption has been increasing worldwide, owing to the development drive of Asian countries. In Portugal, both production and consumption have been stable in recent years.

Milk integrates several products, and in many cases is the basis of the structure for processing other foods. Milk has a very varied composition; its analysis has been the object of several studies. Understanding its incidence in public health is important because of its variability, the protein content also demonstrates importance for technological processing. In the dairy sector, the productivity and the values of the nutritional composition in milk are criteria that the producers have in high consideration because from these they will obtain more profit. In this way, understanding the factors that lead to changes in milk constituents is crucial to improve the efficiency of the results. Therefore, the study of animal feed, environmental conditions, animal welfare and other points involved demonstrate interest for such.

The frame of this work was to survey the characteristics of corn silage from six dairy farms, and how they fit the milk composition. It is concluded that only one protein from milk silage had its protein present in any of the components.

**KEY-WORDS:** Milk; Animal Feed; Bovines



# Índice

Agradecimentos .....	vii
Resumo .....	ix
Abstract .....	xi
Índice.....	xiii
Índice de tabelas .....	xvii
1.Introdução .....	1
1.1 Produção de Leite.....	1
1.2 Raça Holstein Frísia .....	1
2. Leite .....	3
2.1 Composição do leite.....	4
2.2 Microbiologia .....	6
3. Nutrição dos bovinos de leite.....	11
3.1 Exigências internas do bovino.....	12
3.1.1 Água .....	12
3.1.2 Matéria seca .....	12
3.1.3 Energia .....	12
3.1.4 Gordura.....	12
3.1.5 Proteína .....	13
3.1.6 Minerais .....	14
3.1.7 Vitaminas .....	14
3.2 Fibra.....	14
3.2.1 Fibra Bruta .....	15
3.2.2 Fibra em Detergente Ácido .....	15
3.2.3 Fibra em Detergente Neutro .....	15
3.3 Forragens e silagens .....	16
3.3.1 Aveia.....	16
3.3.2 Sorgo .....	16
3.3.3 Algodão.....	17
3.4.4 Cana-de-açúcar .....	17
3.4.5 Cevada .....	18
3.4.6 Milho .....	19

3.4.7 Soja .....	19
4. Fatores que influenciam a composição do leite .....	21
4.1 Raça/Genótipo .....	21
4.2 Saúde e Fisiologia .....	22
4.3 Nutrição.....	22
4.3.1 Distúrbios alimentares.....	24
4.4 Stress térmico .....	24
4.5 Produção intensiva .....	25
4.6 Estado de lactação .....	25
5. Fraudes no leite.....	27
5.1 Determinação de acidez .....	27
5.2 Determinação de gordura .....	28
5.3 Determinação do índice crioscópico .....	28
5.4 Determinação da proteína.....	29
6. Objetivos do trabalho.....	31
6.1 Materiais e métodos.....	31
6.1.1 Caracterização do estabelecimento.....	31
6.1.2 Recolha de informação .....	32
6.1.3 Dados .....	32
6.1.4 Recolha das amostras .....	33
6.2 Análise físico-química .....	33
6.2.1 Análise de acidez.....	33
6.2.2 Análise da matéria gorda .....	34
6.2.3 Índice crioscópico .....	34
6.2.4 Análise da proteína bruta.....	35
7. Tratamento estatístico .....	37
8. Resultados e Discussão .....	39
8.1 Resultados das análises físico-químicas do leite proveniente das diferentes produções .....	39
8.1.1 Valores médios de proteína .....	39
8.1.2 Valores médios de gordura.....	39
8.1.4 Valores médios de acidez.....	41
9. Influência de possíveis fatores nos resultados médios obtidos .....	43

9.2 Influência da estação nas contagens médias das avaliações médias no leite	46
9.2.1 Influência do mês de produção nas contagens médias das avaliações médias no leite.....	47
9.3 Influência da constituição da silagem de milho no leite .....	48
10. Conclusão.....	53





## Índice de tabelas

Tabela 1 – Características da Silagem de milho de acordo com a produção.....	33
Tabela 2 - Valores obtidos de % proteína das amostras do leite .....	39
Tabela 3 - Valores obtidos de % gordura das amostras do leite .....	40
Tabela 4 - Valores obtidos do índice crioscópico das amostras do leite .....	41
Tabela 5 - Valores obtidos da acidez em volume de NaOH das amostras do leite ..	41
Tabela 6 - Médias e desvios padrões das contagens proveniente de cada produção .....	43
Tabela 7 - Valores da probabilidade da proteína entre as diferentes produções .....	44
Tabela 8 - Valores da probabilidade da gordura entre as diferentes produções .....	44
Tabela 9 - Valores da probabilidade do índice crioscópico entre as diferentes produções .....	45
Tabela 10 - Valores da probabilidade da acidez entre as diferentes produções .....	46
Tabela 11 - Médias e desvios padrões das contagens do leite de acordo com a estação.....	47
Tabela 12 - Médias e desvios padrões das contagens do leite de acordo com o mês .....	48
Tabela 13 - Categorização das amostras de acordo com as resultantes médias dos constituintes da silagem .....	49
Tabela 14 - Efeito do constituinte da silagem na composição do leite .....	50



# **1. Introdução**

## **1.1 Produção de leite**

O leite é um produto bastante disseminado por todo o mundo. A União Europeia e a uma grande parte da região sul da Ásia detêm a maior quota do mercado de produção de leite, mais propriamente 44% da porção total. A produção tem vindo a aumentar nos últimos anos, devido ao incremento ocorrido na China, Índia, Paquistão e assim como pequenas produções em outros países em desenvolvimento. [1]

Ao longo dos últimos anos as produções de leite têm sofrido algumas variações, no território nacional, sendo que no ano 2015 denotou-se um pico, com uma produção de 2 049 809 litros. O leite de vaca representa o valor em todos anos, como em 2016 em que dos 1 959 333 litros produzidos, 1 865 155 litros eram de origem bovina. De seguida no setor, temos a produção de leite de origem de ovelha e por fim o leite de cabra, estes números são bastante menores em comparação do leite de origem bovina. (“Produção de leite-INE”, 2016)

Em Portugal, este setor está dominado pelo consumo do leite tratado. No ano de 2016, o consumo do leite foi de 765 toneladas, o que representa mais de metade dos valores totais do leite e produtos lácteos. Em relação aos derivados, o iogurte representa a segunda maior venda, seguida do queijo com um consumo de 124 toneladas. [2]

## **1.2 Raça Holstein Frísia**

A raça Holstein Frísia é uma das várias raças de bovinos com apetência para a produção de grandes quantidades de leite. Esta encontra-se como a raça predominante em Portugal sendo caracterizada por um perfil concavo, longilíneo, baixo estatura, cornos pequenos e finos. A sua pelagem apresenta machas escuras e brancas e o seus os cornos em forma coroa. Demonstra uma linha dorsal reta e comprida. O seu ubere é bastante desenvolvido o que é muito importante numa produção leiteira. [3]

Em Portugal, chamada também de turina, teve as suas primeiras aparições no século XVII em zonas perto de Lisboa. Foi-se difundido para o resto do país, destacando a zona circundante de Aveiro denominada como região Solar de vaca

Leiteira, já que esta área fornecia as melhores características para o desenvolvimento da raça. Atualmente, as produções estão espalhadas pelo o país com uma especial atenção de efetivos na zona sul e a ilha dos Açores. [4]

## 2. Leite

De acordo com o regulamento 853/2004, o leite cru é o leite produzido pela secreção da glândula mamária de animais, que não foi aquecido a uma temperatura superior a 40°C nem submetido a um tratamento de efeito equivalente [5]. O leite recolhido deve ser proveniente de animais que: apresentem um bom estado geral de saúde, especialmente de infeções do trato intestinal, de enterite com febre e diarreia e também uma inflamação ou ferida no; não tenham sido administrados substâncias ou produtos não autorizados; tenham sido respeitados os espaços de tempo obrigatórios a nível de admissão de produtos ou substâncias. [5]

De acordo com a portaria 11/1998, o leite pode ser classificado de acordo com os seus termos qualitativos. A sua categorização é importante para uma maior transparência e melhor análise do leite. A recolha de amostras de leite de produções oficiais deve ser feita por pessoas especializadas em locais específicos. Esta avaliação é feita pelo menos quatro vezes por mês, no período da manhã e de tarde. A amostragem é realizada com o intuito de determinar os seguintes parâmetros: percentagem de matéria gorda e proteína, extrato seco, contagem de microrganismos a 30 graus, contagem de células de somáticas, pesquisa de inibidores, pesquisa de conservantes, pesquisa de neutralizantes, pesquisa de água e teste da redutase.

O leite é um alimento bastante perecível e a segurança alimentar deve ser mantida na cadeia alimentar, é muito importante que a extração do leite, seja procedida de uma forma higienizada e limpa para evitar contaminações. Uma das técnicas para compreensão a qualidade microbiológica do leite, é a contagem em placa de unidades formadoras de colônias. Apesar de não esclarecer quais os microrganismos compreendidos, mostra o número das bactérias presentes capazes de crescer na presença de oxigénio e a temperaturas médias. A União Europeia definiu valores limites para a contagem de microrganismos totais, de maneira que o leite não transmite problemas na pasteurização, transformação e tempo de vida. A presença de resíduos de leite ou água das lavagens no equipamento da ordenha são possíveis locais de origem da microbiota. A limpeza passa pela utilização de processos químicos, físicos e térmicos que apenas são efetivos, quando atuam em conjunto, durante o tempo necessário. Tendo isto em conta, alguns pontos técnicos durante o processo da lavagem têm de ser revistos como a temperatura da água, a

concentração do detergente, a duração de cada fase e a turbulência da água envolvente. A maioria dos detergentes usados têm pH alcalino para que a remoção da proteína e gordura seja mais eficiente. [6]

## **2.1 Composição do leite**

O leite está distribuído em vários constituintes, sendo que a parte energética está repartida por diferentes grupos. Em média, o leite é constituído maioritariamente por água, compreendendo 88% do total. De seguida, temos três grupos de macronutrientes: os hidratos de carbono, as gorduras e as proteínas que representam a porção energética. Os hidratos de carbono são, a seguir à água, o segundo maior componente do leite. Estes representam 4,7% do leite, tendo a lactose como o principal constituinte. A gordura é composta maioritariamente por triglicerídeos, tendo uma percentagem 3,5 no total do leite. E por fim a nível da proteína, que ocupa um lugar importante na indústria transformadora do leite, ocupa a quarta posição com uma média de 3 gramas por 100 gramas de leite. [7]

### **2.1.1 Hidratos de carbono**

A lactose é o principal hidrato de carbono do leite e produtos lácteos. Este dissacarídeo é composto por glucose e galactose e é o único sacarídeo sintetizado por mamíferos. A lactose tem um papel importante na formação neural e desenvolvimento da pele. [8]

A determinação da lactose é um fator muito importante na indústria, perante a impossibilidade de alguns consumidores para sintetizarem enzimas capazes degradar este dissacarídeo. A sua análise tem relevância em outros campos como por exemplo na indicação da saúde animal, uma vez que quando os níveis de lactose estão abaixo do considerado normal, um dos possíveis motivos relacionam-se com a possibilidade dos bovinos sofrerem de mastites. [9]

### **2.1.2 Lípidos**

O conteúdo gordo apresenta uma composição diversificada contendo diferentes classes de lípidos como triglicerídeos, fosfolípidos, colesterol, esteres de colesterol, di/monogliceróis e ácidos gordos livres. Esta fração é formada por diferentes ácidos gordos, sendo os ácidos gordos monoinsaturados predominantes,

juntamente com uma porção de saturados. Há uma variabilidade de ácidos gordos no leite desde de cadeia curta até cadeia longa, dando ênfase aos ácidos gordos palmítico, oleico e esteárico. Toda esta parcela está emulsificada em glóbulos de gordura, estando dispersos numa fase líquida. A estrutura e a composição dos triglicerídeos afetam os pontos de fusão, evaporação, cristalização e as propriedades reológicas do leite. [10]

### **2.1.3 Proteínas**

A proteína pertencente ao leite tem alto valor biológico devido à alta variedade de composição em aminoácidos. Para além do seu valor, alguma têm propriedades antimicrobianas e fazem parte de hormonas, enzimas, anticorpos e facilitadores de absorção [11]. A beta-caseína é a proteína que está em maior percentagem, integrada por uma cadeia polipeptídica de 209 aminoácidos [12]. No soro estão compreendidas as restantes proteínas como a imunoglobulina A e G, albumina de soro, lactoferrina e lactoperoxidase. Este conjunto de compostos do soro são muito importantes já que desenvolvem o sistema gastrointestinal de bovinos recém-nascidos e também fornecem imunidade contra agentes agressivos (soro). Destaque ainda para a lactoferrina e lactoperoxidase, que são duas glicoproteínas da família peroxidase e podem ser encontradas também na saliva e outras secreções exócrinas, que têm a capacidade de inibir a multiplicação de bactérias gram-positiva e gram-negativa e ainda leveduras, devido a isto têm sido alvo de estudos científicos e aplicações em produtos alimentares. [13]

### **2.1.4 Minerais**

A fração mineral é uma pequena parte no seu total. Esta fração é bastante relevante para a estabilidade do leite, visto que o cálcio evita a coagulação das caseínas. O fosfato inorgânico, cálcio e potássio são alguns dos minerais que se apresentam em maior concentração, apesar destas concentrações variarem com os valores de proteína. O estado de lactação, a saúde e a nutrição são fatores que demonstram grande influência na concentração destes no leite. [11]

### **2.1.5 Vitaminas**

A vitamina E é encontrada em pequenas concentrações no leite. É constituído por vários compostos como tocóferóis e tocotrinóis, sendo importante para estimular o sistema imunitário. O leite também representa uma fonte de vitamina A essencial para a reprodução, manutenção dos ossos e diferenciação celular. Outro composto presente é o folato, embora que a sua concentração reduza bastante em leites processados devido a perdas pelo o calor em processos como ultrapasteurização. O leite é também uma excelente fonte de riboflavina, uma vitamina necessária para duas co-enzimas responsáveis para vários processos metabólicos na célula. Por fim, a vitamina B12 pode ser encontrada em baixos valores no leite, é uma vitamina muito importante já que apenas se encontra em alimentos de origem animal. [11]

## **2.2 Microbiologia**

Uma grande variedade de microrganismos habita o leite cru. Um dos grupos presentes são os psicotróficos, que são um conjunto de microrganismos com capacidade de multiplicação em baixas temperaturas e termorresistentes. Neste grupo temos incluídas as bactérias lácticas, as bactérias patogénicas e coliformes. Os últimos dois grupos de bactérias, as patogénicas e coliformes, podem aparecer no leite por origem do animal ou contaminação pelo o Homem e/ou do ambiente envolvido. A carga de bactérias depende do tempo de armazenamento e a temperatura em que se encontra o leite antes de sofrer pasteurização, de acordo também com as condições de higiene existente. Por isso, o leite deve pertencer a vacas sãs e este deve-se manter em temperaturas menores de 4 graus. O maior grupo de microrganismos que pode comprometer o leite proveniente das pequenas vacarias é a microflora mesófila aeróbica, que pode ser encontrada por contagem em placa a 30 graus. A presença de coliformes no leite é preocupante por ser um risco para a saúde pública, tanto para quem consome o leite e os seus derivados assim como para quem manuseia. A presença de agentes patogénicos no úbere, afeta a qualidade do leite pela a origem de sabores e aromas anômalos, juntamente com perdas na produção de queijo devido a diminuição da proteína e gordura. A verificação da qualidade microbiológica no leite cru é dificultada devido o tempo que decorre desde do processo de ordenha até que sejam executadas as análises microbiológicas. [6]



As contaminações no leite têm origem em três fontes: dentro do úbere, área exterior do úbere e o equipamento envolvido da ordenha. Nos últimos 25 anos, os processos de ordenha, equipamento e locais de armazenamento aperfeiçoaram e resultando na melhoria da qualidade do leite. Embora com longos períodos de armazenamento do leite cru e na presença de mastites, o tempo de vida do leite é reduzido e por consequência o conteúdo organolético do leite. Uma das formas para manter o leite estável e evitar o agravamento destes problemas é a refrigeração, em contradição pode mascarar falhas de higiene e falta de boas práticas, incluindo o uso inadequado de material que não esteja limpo e desinfetado. [6]

### **2.2.1 Bactérias lácticas**

Na microflora do leite, as bactérias lácticas ou as BAL são os microrganismos predominantes. Estas caracterizam-se por serem bactérias gram-positivas, usualmente não móveis, catálase negativa, não esporuladas, com capacidade de gerar ácido láctico através do processo da fermentação. Podemos categorizar em dois tipos as homo-fermentativas e hétero-fermentativas, esta diferenciação é devida à forma como as hexoses são metabolizadas. Os produtos originados por parte das hétero-fermentativas são: dióxido de carbono, ácido láctico, ácido acético e etanol, enquanto no caso das homo-fermentativas o produto resultante da fermentação é o ácido láctico. Na indústria alimentar, o leite cru providencia as melhores culturas de bactérias lácticas para a produção alimentar, devido a sua apropriação aos constituintes naturais do leite. A qualidade de bactérias lácticas oriundas de leite pasteurizado é muito menor do que culturas de leite cru, quando se compara o seu perfil tecnológico, como no caso do queijo que perde muito os seus traços de qualidade, tal como aroma ou sabor característico. [14]

As bactérias do leite produzem quantidades suficientes de enzimas capazes de transformar os nutrientes em propriedades sensoriais altamente desejáveis. A presença destes microrganismos é afetada por fatores como condições de fermentação, temperatura de armazenagem e as características inerentes de cada espécie. Na fermentação, os produtos resultantes das bactérias lácticas devido são bastante apreciados pela sua segurança, armazenagem duradoura e propriedades sensoriais atrativas, por isso as bactérias lácticas são consideradas culturas Starter (um número de células de um microrganismo que é usadas para transformar

matérias primas através do controlo e direção do processo fermentação). A indústria demonstra um grande interesse nestas culturas, devido a sua ação na transformação de lacticínios, como a alta taxa de conversão de biomassa e obtenção das propriedades desejadas. [15]

### 2.2.1.1 Efeito Probiótico

O efeito probiótico é um resultado de um produto originário de microrganismos viáveis que alteram ou melhoram uma parte do organismo, apresentando benefícios para o seu hospedeiro. As vantagens da utilização de o efeito probiótico são variadas como: redução de sintomas de alergia, alívio de obstipações, aumento da absorção de minerais particularmente importa na manutenção da densidade óssea e estabilidade, menor probabilidade de incidência de cancro, redução de níveis de colesterol. [16]

As características de interagir com o hospedeiro, por parte das bactérias lácticas faz com que estas se enquadrem como probióticos. A capacidade tolerância à acidez alta, a sua adesão às células epiteliais, a produção de substâncias bactericidas e peróxido de hidrogénio e a competição com agentes patogénicos, são alguns dos efeitos que as bactérias lácticas. Em alguns estudos, verificou-se que algumas estirpes de BAL após serem ingeridas têm a capacidade de inibição de agentes infecciosos como *Pseudomonas* e *Listeria monocytogenes*. Dentro do hospedeiro, alguns agentes patogénicos conseguem produzir enzimas que conseguem transformar os seus substratos em composto indutores de cancro, A *L. rhamnosus* demonstrou a possibilidade de reduzir a concentração destas enzimas. Outro problema atual é a formação das nitrosaminas, causada por uma grande de quantidade de alimentos processados que têm os nitritos como aditivo, este reage aminoácidos formando as nitrosaminas, devido à ação do calor. O nosso organismo não consegue degradar as nitrosaminas e estas têm potencial para a iniciação de tumores. Os *Lactobacilli* e a *bifidobacteria* absorvem estes compostos e inibem a primeira biotransformação. Em relação da sua ação nos níveis de colesterol, existem vários estudos que se contradizem. No entanto, alguns autores descrevem uma redução do colesterol devido a conjugação do colesterol com sais biliares aquando do abaixamento do pH no intestino. [17]

Uma pequena parte da população mundial não consegue hidrolisar a lactose devido não possuírem a enzima  $\beta$ -galactosidase, desta forma não procedendo à hidrólise da lactose e assim proceder absorção da glucose e da galactose. Uma das soluções aplicada nos produtos de lacticínios foi a utilização das BAL. Estas bactérias convertem a lactose em ácido láctico, desta forma reduzindo os níveis de concentração deste açúcar e possibilitando o consumo de vários produtos lácteos.

[17]



### **3. Nutrição dos bovinos de leite**

A alimentação é um dos elementos chave para alcançar uma produção de sucesso, uma vez que é uma grande parte das despesas numa produção. Os animais necessitam de forragens de alta qualidade com objetivo de obter energia e proteína. O crescimento e desenvolvimento das vacas leiteiras envolve diferentes alimentos que devem ser sempre fornecidos e nas quantidades corretas. Diferentes alimentos possuem diferentes compostos e em diferentes proporções, respondendo às diferentes necessidades energéticas e funcionais do bovino. As principais fontes alimentares destes são as forragens e rações. As rações são alimentos preparados pela indústria, constituídos essencialmente por mistura de silagens e outros constituintes, de maneira a corresponder às necessidades energéticas. Enquanto as forragens que levam a formação das silagens, após a fermentação anaeróbia, são constituídas na maioria por hidratos de carbono. As forragens e as silagens têm em comum a fibra na sua constituição. A fibra é uma das principais fontes de energia para os microrganismos presentes no rúmen dos bovinos de leite, este órgão influência bastante o desempenho da vaca relativamente na produção de leite. Um dos produtos da fermentação da fibra são os ácidos gordos usados para a produção de energia [18]. Devido a complexidade de compreensão da nutrição, a National Research Council (NRC) dos Estados Unidos da América classificou as diferentes fontes alimentares em dois tipos: alimentos concentrados e alimentos volumosos.

#### **Alimento Volumoso/Concentrado**

Um alimento volumoso é um alimento representado por baixos valores energéticos, a grande parte dos nutrientes não são metabolizados e contêm mais de 18% de fibra bruta e menos de 60% de Nutrientes totais digeríveis NTD. Dentro desta categoria podem ser divididos em secos e húmidos. [19]

O concentrado é um grupo de alimentos energéticos, com um teor de fibra menor de 18%. Os seus constituintes são altamente metabolizáveis e podemos dividir ainda em duas subcategorias: energéticos e proteicos. A diferença pode ser compreendida pelo próprio nome, o primeiro grupo contém teores menor que 20% de proteína bruta e são alguns exemplos alimentos como o milho, sorgo, trigo e arroz. Os proteicos têm na sua composição mais de 20% de proteína bruta e dentro deste grupo podemos encontrar farelos de soja, algodão e amendoim. [19]

### **3.1 Exigências internas do bovino**

#### **3.1.1 Água**

A água é o elemento principal para qualquer organismo, necessário para todas as reações bioquímicas que ocorrem nas células vivas. A perda de água é feita pela saliva, urina, fezes, leite, suor e na respiração. À medida que a água é restringida na dieta, o consumo de alimento por consequência reduz e de maneira igual a produção de leite. As vacas leiteiras tomam em média 40 a 60 litros de água por dia, dependendo do seu estado saúde, tipo de alimento e condições climáticas. Porém, com o aumento de consumo de água aumenta o consumo de alimento seco, sendo isto muito relevante para uma produção leiteira. [20]

#### **3.1.2 Matéria seca**

A matéria seca representa todos os constituintes quando se elimina a água, ou seja, hidratos de carbono, proteínas, gordura, vitaminas e minerais. É muito importante saber a quantidade de matéria seca que um alimento apresenta, de maneira a compreender se estamos a satisfazer as necessidades nutricionais do animal. A ingestão depende de vários fatores como o mês de lactação, o número de lactações, estatura do animal, estado de saúde e a qualidade e digestibilidade das forragens. [21]

#### **3.1.3 Energia**

A energia é obtida maioritariamente a partir dos hidratos de carbono ainda que alguma provém de lípidos e proteínas. Os hidratos de carbono sendo os responsáveis pela a maioria da energia libertada, são os maiores constituintes da matéria seca. [22]

#### **3.1.4 Gordura**

No início das lactações, uma grande parte da gordura é movida dos tecidos adiposos para ser utilizada na produção de leite. Por isso, a introdução de gordura nas dietas das vacas no início das lactações, pode ajudar a reduzir o consumo

excessivo de amido na produção de energia no rúmen, evitando desta maneira a acidificação excessiva no rúmen. Porém, a gordura deverá ser de baixa digestão com o intuito que esta não seja totalmente degradada no rúmen e assim não altere o equilíbrio de ácido no meio. Recomenda-se por isso, a inclusão de sementes oleaginosas na alimentação e que as sementes estejam inteiras e não quebradas. [23]

### 3.1.5 Proteína

A proteína é utilizada para vários processos metabólicos e fornecimento de aminoácidos para a síntese proteica, desta maneira é uma das maiores exigências na dieta. Na nutrição dos bovinos, a proteína é expressa em Proteína Bruta e é obtida pela multiplicação de 6,25 pelo conteúdo de azoto total. A digestão das proteínas ocorre em grande parte pelos os microrganismos presentes no rúmen, a parte sobrança de proteína do alimento que não é degradada no rúmen é digerida nos compartimentos do estomago da vaca e absorvida pelo intestino. A falta prolongada de proteína na alimentação leva a perdas de peso nas vacas assim como na produção como em compostos não gordurosos no leite. A lisina e a metionina são dois aminoácidos limitantes para a produção de leite e muitas vezes são introduzidos na alimentação em forma de suplemento. Tendo isto em conta, para maximizar a produção de leite, algumas dietas incluem: farinha de peixe, farinha de carne e até resíduos de destilaria. [22]

As vacas em lactação dependem muito da proteína, principalmente no início da lactação. Isto pode ser comprovado porque quando se dá a percentagem correta de proteína na dieta, esta se correlaciona com altas produções de leite. Outro fator a ter em conta é o local onde a proteína é degradada. A maior parte da proteína presente na dieta é degradada no rúmen, pela microflora presente. Esta primeira degradação da proteína não é uma vantagem, pois verifica-se que a absorção da proteína no intestino traduz maiores concentrações de proteína no leite. Desta forma é usual, aplicar um tipo de proteína denomina proteína protegida na dieta, que resiste ao processo de degradação no rúmen para ser absorvida no intestino. [24]

### **3.1.6 Minerais**

Os minerais fazem parte dos micronutrientes, ou seja, compostos que são necessitados em menores quantidades, mas que desempenham funções importantes como a constituição dos ossos e dentes, contração muscular e equilíbrio osmótico. Dentro dos minerais temos dois grupos: macrominerais e microminerais, que depende da necessidade do mineral. Para qualquer bovino, os minerais mais necessitados são o cálcio, o fósforo e o sódio que podem ser encontrados numa dieta correta e assim evitar a implementação de suplementos. [25]

### **3.1.7 Vitaminas**

Como os minerais, as vitaminas são compostos orgânicos pertencentes aos micronutrientes. É muito importante que estejam presentes na alimentação devido a sua presença para várias funções tais como: reprodução, regulação do metabolismo e crescimento. As vacas obtêm as quantidades necessárias pela a sua alimentação ou através do metabolismo das bactérias presentes no rúmen. A única indicação é a inclusão da vitamina A para as crias devido a sua incapacidade de transformar o caroteno em vitamina A. [22]

## **3.2 Fibra**

A fibra encontra-se na parede celular das células vegetais, sendo constituída por celulose, hemicelulose e lignina. A fibra é constituída por diferentes partes, pode ser quantificada em fibra bruta, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido. Esta distribuição da fibra está conectada com o modo de análise. [26]

A fibra afeta a performance de produção de leite e por isso o entendimento do seu efeito é muito relevante. A proporção correta da fibra na dieta transporta imensas vantagens como: um melhor consumo da matéria seca, valores mais adequados de gordura no leite, prevenção de problemas de parto e uma correta fermentação no rúmen. A capacidade de digestão da fibra dos bovinos é influenciada por vários fatores: estado físico dos bovinos, tipo de fibra do alimento, tamanho da fibra, quantidade de fibra e pela frequência de alimentação. É muito



importante incluir a fração correta de fibra na dieta, visto que quando a parcela é insuficiente a relação de ácido propiónico/ácido acético altera-se e desta maneira o pH do rúmen, diminuindo da quantidade e atividade da microbiota que por consequência leva as oscilações de forma negativa. [27]

### **3.2.1 Fibra Bruta**

A fibra bruta é composta por celulose e pequenas quantidade de lignina e hemicelulose. No processo analítico de obtenção da fibra bruta recorre-se ao uso de ácidos e bases, para a extração de amido, açúcares e a fração da pectina e hemicelulose. Devido a complexidade de compostos dentro da fibra bruta existem dois tipos de determinação da fibra bruta, a fibra em detergente ácido e a fibra em detergente neutro. [28]

### **3.2.2 Fibra em Detergente Ácido**

A fibra em detergente ácido é um procedimento experimental que permite avaliar a lignina e a celulose da parede celular das silagens. O procedimento experimental, consiste no uso de um detergente ácido numa amostra seca que leva à obtenção de um resíduo que é constituído por elementos insolúveis como celulose e lenhina, inclusive uma fração mineral. [29]

### **3.2.3 Fibra em Detergente Neutro**

A fibra em detergente neutro demonstra uma relação com a capacidade máxima de ingestão da fibra, quanto maior for a quantidade de detergente de fibra neutra menor a possibilidade de digestão da fibra. É o tipo mais usado para a quantificação da fibra bruta na alimentação dos bovinos. Um dos exemplos de recomendação por parte de engenheiros zootécnicos, é da inclusão de um mínimo de 28% de fibra em detergente neutro na alimentação de vacas no primeiro mês de lactação, com o objetivo garantir boas percentagens no leite. A execução da análise do detergente neutro é semelhante ao procedimento ao detergente ácido, com a particularidade de ser capaz de obter hemiceluloses. O procedimento de análise da fibra insolúvel em detergente neutro retrata o uso de sulfito de sódio para a obtenção celulose, hemicelulose e lignina. Porém obtém-se sempre contaminações

de amido, desta maneira acrescentou-se amílase para degradação deste hidrato de carbono. [29]

### **3.3 Forragens e silagens**

#### **3.3.1 Aveia**

A aveia é uma planta pertence à família das gramíneas, sendo muito exigente por água. É muito usado na alimentação humana, mas também na alimentação animal, principalmente na alimentação dos cavalos devido ao seu valor nutricional em comparação com os outros cereais. É considerado uma excelente forragem para o inverno apesar de não ser adequado para o processo de engorda. [30]

A aveia possui um teor de proteína elevado em comparação com as restantes forragens com uma grande diversidade de aminoácidos em detrimento aos outros cereais, assim como um elevado teor de lípidos, composto maioritariamente por ácidos gordos insaturados. Num estudo feito com o objetivo de avaliar os efeitos da aveia na dieta, comparou-se a silagem de milho e a aveia. Entre dois grupos distintos de vacas, em que a diferença se relacionava com a inclusão de aveia num dos grupos para além da silagem de milho, encontraram-se diferenças entre estes, visto que as vacas que consumiram aveia demonstraram maior conteúdo de gordura no leite. Em longo prazo foi verificado um incremento na produção em relação a silagem de milho. Embora que o custo por cada litro produzido seja maior para pastagem de aveia. [31]

#### **3.3.2 Sorgo**

O sorgo pode ser comparado ao milho devido a similaridade da constituição entre os dois grãos, embora que o grão do sorgo tenha um maior conteúdo proteico e menor energético. O sorgo pode estar presente sob a forma de grão, forragem e silagem. É utilizado para a produção de álcool, na indústria da panificação e também na alimentação dos bovinos. Uma das grandes vantagens é o seu custo reduzido, devido a diminuição de uso de suplementos na alimentação. Assim, o sorgo pode substituir o milho em grandes percentagens, quando moído. Uma

grande desvantagem na sua constituição é a presença de taninos que reduzem o paladar e a sua digestibilidade. [30]

Em zonas quentes e secas, o cultivo pode ser considerado um obstáculo e por isso o sorgo é uma excelente solução em detrimento de outras espécies, devido a sua adaptabilidade para a sobreviver em condições difíceis. O seu nível de maturação e fotossintético é dos mais eficazes e por isso estando presentes entre os mais cultivados como o milho e trigo. [2]

Um estudo realizado no Brasil, duas dietas diferentes foram aplicadas num grupo bovinos de leite, uma com silagem de milho e outra silagem de sorgo com a intenção compreender as oscilações da gordura no leite. Foi verificado que o grupo alimentado pela silagem de sorgo produzia menos leite em detrimento ao segundo grupo. Em termos do teor de gordura no leite, não se apurou que diferenças significativas entre os dois grupos. [33]

### **3.3.3 Algodão**

O caroço de algodão é plantado de acordo com a estação, tendo como finalidade a produção de fibra. Esta planta representa um alto teor de gordura e moderados de proteína (lisina e triptofano), fibra e energia, sendo ainda rico em fósforo e vitamina D. Os óleos extraídos do caroço, dão origem ao farelo de algodão, este ostenta níveis de proteína altos e por isso muitas vezes é usado na suplementação animal. Uma das desvantagens de utilizar esta planta na alimentação dos bovinos é a presença gossipol na sua constituição. Este polifenol que pode diminuir os valores de gordura no leite, sendo ainda como um fator de diminuição da fertilidade das fêmeas. O composto liga-se ao ferro evitando que este seja absorvido, podendo provocar anemias aos bovinos. [30]

### **3.4.4 Cana-de-açúcar**

A cana-de-açúcar é uma planta com potencial para a produção de açúcar e de álcool. O estado de maturação da cana-de-açúcar influencia a sua composição, por isso à medida que a maturação avança o teor de proteína bruta decresce e o teor de fibra aumenta. A lignina, a celulose e hemicelulose são dos principais constituintes da cana-de-açúcar. [34]. Quando se compara a forragem com a

silagem, a última possui menores valores de hidratos de carbono devido a processos de fermentação e respiração celular. [35]

A cana-de-açúcar tem sido utilizada durante o período seco do ano, como uma adicional ajuda visto que grande parte das forragens e silagens começam a esgotar. Esta planta tem sido alvo de vários estudos, de maneira a compreender qual variação de cana demonstraria melhor produção de energia. [36]

Esta planta exhibe-se como um substituto ao milho, vários autores têm apontado as suas vantagens, como a simplicidade de cultivo, grande quantidade de produção, menor custo e por isso mais rentável, em contraste não se atinge os valores de produção de leite por parte das vacas como no caso do milho. A percentagem correta de substituição da silagem de milho por cana-de-açúcar, de maneira a manter-se a mesma quantidade de leite a percentagem correta deve ser perto de 30%. [24]

### **3.4.5 Cevada**

A cevada é um distinto alimento usado na dieta, pode ser moído, mas é preferível que seja amassado ou triturado. O bagaço de cevada pode ser encontrado na alimentação dos bovinos aproveitado como resíduo da indústria da alimentação. Este é rico em proteína e vitaminas que vão estimular a microbiota do rúmen, por isso é recomendado para vacas de alta produção. Deve ser evitado em excesso devido acidificação excessiva no rúmen que pode levar a quebras na produção do leite e problemas pós-parto. A cevada oriunda da cervejaria pode do mesmo modo ser ensilada com ajuda de acidificantes e bactericidas. [37]

O grão da cevada tem um nível de digestão menor que o milho, desta maneira vacas alimentadas exclusivamente com este grão produzem menores quantidades de leite que quando alimentadas com o milho. Uma forma de ultrapassar esta questão, passa pelo aumento da percentagem do concentrado na alimentação. [38]

### **3.4.6 Milho**

O milho é amplamente usado na alimentação animal e humana. Este é rico em energia, oriunda da parte do amido e pouca quantidade em proteína. O grão ainda é constituído por glúten, gérmen e água. Um dos pontos importante é a sua constituição em amido, que se divide em amilose e amilopectina, estes dois constituintes são facilmente digeríveis. A partir do milho pode se obter vários produtos como: palha, farelo de gérmen, glúten de milho, silagem e farelo do glúten de milho. [30]

O grão do milho é usado em grandes proporções nas rações. O farelo do milho tem presente o embrião, endosperma e tegumento, é rico em ácidos gordos insaturados e fibra. A forma ensilada da palha é pobre em fósforo e proteínas. Deve ser fornecida após a ordenha e em todo o tempo disponível.[39]

A silagem de milho é das mais utilizadas por sua capacidade de corresponder as necessidades de matéria seca, fibra e possibilitar a uma correta fermentação. Alguns dos fatores apontados que alteram a composição do milho e por isso a digestibilidade por parte dos ruminantes são: a maturidade da colheita, origem genética, altura da colheita. O milho deve ser colhido com uma taxa de maturação na ordem dos 30%, de maneira obter uma silagem de qualidade, abaixo deste valor leva a perda de matéria seca e por consequência menor consumo por parte dos animais. [40]

### **3.4.7 Soja**

O grão da soja exhibe um alto potencial energético e um bom valor proteico, em contraste fracas quantidades de cálcio, vitamina D e carotenos. Na extração do óleo do grão obtemos um subproduto que pode ser aplicado na alimentação, o farelo de soja que é altamente proteico e ainda algumas vitaminas como E e K. Outro produto usado na constituição das dietas das vacas é a palha de soja, com uma alta percentagem de fibra. Uma das vantagens é sua capacidade de aumentar os valores de gordura.

Num estudo realizado no Brasil, onde se substituiu parcialmente o milho por casca de café e soja, denotou-se um aumento de percentagem na ingestão de fibra por parte das vacas, quando a soja substituiu metade do milho na dieta. Verificou-se

ainda que com uma taxa de substituição de 30% do milho por soja, a percentagem da proteína no leite diminui. [41]

## **4. Fatores que influenciam a composição do leite**

A interação entre vários fatores desde do meio até ao animal, condicionam as variações dos constituintes do leite. A estação do ano também apresenta um papel importante, as variações anuais tendem a modificar todo conteúdo proteico, de gordura e azoto total. À medida que a temperatura aumenta, a parte gorda do leite tende a diminuir. O Outono e o Inverno são as estações, onde os bovinos tendem a produzir com maior quantidade de proteína, enquanto no Verão as percentagens de gordura e proteína são mais baixas, no Hemisfério Norte. [42]

### **4.1 Raça/Genótipo**

A influência da genética na composição do leite é bastante alta. As diferentes raças leiteiras têm variações entre si, tal como a repetibilidade da quantidade de leite nas diferentes lactações e as suas características organoléticas. As principais raças de produção de leite são: Holstein-Frisia, Jersey, Guernsey, Brown Swiss e Ayrshire. Aquando a seleção do tipo de raça mais se adequa à produção, verificasse primeiro as performances de cada uma ao nível de produção de leite e constituintes de leite. Por exemplo, a raça Holstein é consistente ao nível de repetibilidade de percentagens de gordura no leite em diferentes lactações, embora que a raça Jersey demonstra maiores percentagens de gordura no leite. Em relações de sólidos não gordura, a raça Ayrshire é uma raça superior devido às concentrações destes compostos no leite em comparação com os outros grupos de bovinos. [43]

Para além das diferenças encontradas na gordura, o teor proteico também varia de bastante de acordo com a raça. Uma das principais diferenças são as diferentes percentagens de azoto proteico, como o caso da raça Jersey e Guernsey apresentam 3.6% e 3.9 % de proteína no leite, respetivamente. A Jersey e a Guernsey apresentam maiores percentagens de caseína e soro no leite. Em contraste as raças Holstein e a Dairy Shorthorn exibem valores mais baixos de proteína dentro das raças leiteiras. [43]

## 4.2 Saúde e Fisiologia

A mamite é uma doença bastante difundida entre os bovinos de leite. Trata-se de uma infeção causada por bactérias ou outros microrganismos na glândula mamária, principalmente vacas que estão mais sujeitas a fatores de stress e outros fatores físicos. [44]

Este quadro clínico pode levar a oscilações na concentração das proteínas, estas variações estão relacionadas com a diminuição da síntese das proteínas como caseína e lactoalbumina. No grupo das caseínas, as diferentes frações caseína- $\alpha$  e caseína- $\beta$  sofrem um decréscimo enquanto se verifica um aumento nos valores de caseína- $\gamma$ . A percentagem da gordura no leite também diminui, devido à um abaixamento da síntese da gordura na glândula mamária. [45]

As mamites também podem alterar as percentagens dos minerais, quando a infeção ocorre temos um aumento do cloreto e do sódio e uma ligeira diminuição do potássio. O mecanismo da doença leva que a uma alteração na permeabilidade dos capilares sanguíneos, alterando as diferentes concentrações dos minerais nas células. O cálcio e o fósforo são outros minerais a sofrer alterações, mas como estes iões estão complexados nas micelas das caseínas, o declínio das percentagens é minúsculo. [46]

Com o aumento da idade há um declínio no teor de proteína no leite, denotando-se esta quebra a partir dos 3 anos de idade. O primeiro parto se ocorrer o mais cedo possível obtém-se melhores resultados em quantidades de gordura e proteína, embora piores valores em quantidades de leite. As quantidades de leite produzido vão aumentando à medida que os anos avançam. [47]

A adrenalina e a noraepinefrina são duas hormonas, que atuam como respostas fisiológicas no combate ao frio, fadiga e o choque. O teor de gordura do leite tem a tendência a diminuir, quando há um aumento da concentração destas hormonas na corrente sanguínea. [48]

## 4.3 Nutrição

Na formulação da alimentação para os bovinos de leite, um dos pontos a ter em consideração é o balanço entre os hidratos de carbono facilmente fermentáveis



e o conteúdo de gordura. Uma das consequências de dietas com baixa matéria gorda é a alteração da fermentação do rúmen, os hidratos de carbono que são rapidamente fermentados levam a um aumento de ácido propiónico e a um decréscimo de ácido butírico e acético. Esta concentração elevada de ácido propiónico estimula a produção de insulina, diminuindo a libertação de ácidos gordos do tecido adiposo. A situação repete-se quando se diminui a quantidade de forragem e aumenta-se a ração, devido a redução do conteúdo de fibra. Como dito anteriormente, o estado de maturação e o tamanho das partículas das silagens também afetam o conteúdo de gordura, quando estas são demasiado curtas não ficam retidas no rúmen e não sofrem a fermentação da microbiota hospedeira. [48]

A escolha do tipo de hidrato de carbono é um ponto fulcral para o melhoramento da qualidade do leite. Cada silagem tem diferentes constituintes por isso diferentes digestibilidades. O milho apresenta maiores valores de amido para ser transformado em glicose no intestino, no caso da cevada como amido é menor e contem mais fibra, a conversão anterior no rúmen para ácido propiónico será menor. [48]

Quando se inclui conteúdo proteico nas rações dos animais, verifica-se um aumento proporcional da proteína no leite. Quando temos quantidades insuficientes de proteína dietética nas rações os valores da proteína tendem a baixar, embora que se possa contrariar o efeito com suplementos de proteína que sejam degradados no rúmen. A proteína degradada no rúmen e a proteína bruta, são valores em ter consideração para o aumento da quantidade de leite assim como os sólidos do leite. [49]

Ainda não se estabeleceu uma correlação comprovada entre a importância do rúmen e a concentração de proteína no leite, porém a teoria mais provável está relacionada com o ácido propiónico. Quando se aumenta a ração ou uma diminuição do tamanho das forragens, verifica-se um aumento de ácido glutâmico na glândula mamária. Desta maneira, o ácido glutâmico fornece aminoácidos para a síntese proteica. A segunda teoria descreve que o ácido propiónico através da insulina pode aumentar as concentrações plasmáticas da glutamina e alanina. [48]

A alimentação normal nos bovinos não tem grande efeitos na composição dos minerais. As dietas que diminuem a percentagem de gordura também tendem a diminuir os valores dos minerais como citrato e cálcio no leite. As condições

alimentares que afetam os valores da caseína, interferem por consequência nas concentrações do cálcio por estar complexado nestas proteínas. O conteúdo mineral segue as mesmas tendências que a proteína e gordura nos diferentes estados de lactação. Primeiro verifica-se altas concentrações no colostro, o que vai alterando à medida que a se avança no estado de lactação. O fósforo inorgânico encontra-se em maiores percentagens em vacas na sua primeira lactação de vacas múltíparas. [50]

#### **4.3.1 Distúrbios alimentares**

No sistema de produção, o objetivo é continuamente obter sempre o maior rendimento e por isso fornece-se o máximo de quantidade de alimento, e em consequência os bovinos podem adquirir problemas metabólicos e digestivos associados ao consumo exagerado e inadequado. Um destes distúrbios usuais é o consumo excessivo de sal, pelo consumo excessivo das silagens, que pode causar edema, que dificulta assim a extração do leite do úbere. Alguns autores sugerem também pelo consumo exagerado de proteína durante o tempo de secura. [51] Outra doença associada aos bovinos leiteiro de alta produção é a falta de energia no início da lactação, este quadro denomina-se de cetose. Os sintomas apresentados: odor na urina, diminuição da produção de leite e diminuição do peso corporal. Uma forma de balançar este quadro clínico é o aumento da proteína nas rações.[52]

#### **4.4 Stress térmico**

Entre o animal e o ambiente há um equilíbrio estabelecido. A termorregulação é um meio usado pelo organismo para manter este contacto, através de um conjunto de estratégias para manter uma temperatura corporal. No sistema pecuário é bastante compreendido que o ambiente climático afeta diretamente e indiretamente a produtividade. Desta maneira, desenvolveu-se vários modelos para prever quais são as respostas fisiológicas aos fatores ambientais e como estes afetam a saúde do organismo. Para a lactação, a temperatura ótima varia entre espécie e raça assim como a tolerância a diferentes valores de temperatura. Um

dos exemplos é o calor do verão, que pode levar à diminuição de ingestão de forragens ou diminuir a qualidade desta. [53]

Quando combinado temperaturas altas com humidades relativas altas, as vacas tendem a responder de forma negativa na quantidade de leite e há um aumento na temperatura corporal. Um dos maiores desafios é dissipar o calor produzido por processos metabólicos, principalmente em zonas quentes. Principalmente, as vacas em fases iniciais de lactação de alta produção demonstraram maiores aumentos da temperatura corporal que vacas em fases tardias de lactação ou de baixa produção. Com o aumento da temperatura retal em qualquer bovino leva a uma diminuição na produtividade, e principalmente quando são excedidas temperaturas de 39º durante 16 horas. [54]

#### **4.5 Produção intensiva**

A produção intensiva procura a escolha de animais com o maior potencial da produção e o menor custo possível, tendo em conta a exigência tecnológica e o confinamento. A alimentação fornecida aos bovinos é de custo menor. O sistema intensivo apresenta algumas vantagens em detrimento ao extensivo, devido à possibilidade de um maior número de animais nas instalações, um melhor aproveitamento das terras e menor desgaste das vacas. Em contraste, o investimento envolvido e as contaminações são menores que contrariam a seleção do sistema intensivo. [55]

#### **4.6 Estado de lactação**

O estado de lactação apresenta-se como um fator relevante em qualquer produção leiteira. Verifica-se que na fase inicial, o colostro demonstra valores muito altos de imunoglobulinas e concentrações duas vezes em termos de caseína e lactoalbumina, do que fase intermédia da lactação. Após este período, os valores caem drasticamente quando ocorre a transição de colostro para leite. Inversamente, após 5 a 10 semanas de lactação, atingimos valores altos de produção do leite. As vacas após as primeiras semanas do parto, não tem capacidade para manter as médias de produção de leite, que são necessárias para obtenção de lucro numa produção, devido a sua incapacidade de consumir alimento suficiente. O consumo

de água também é de elevada importância, visto que o leite é constituído de 80 a 90% de água por isso a sua acessibilidade deve ser sempre mantida. No meio da lactação, as reservas corporais perdidas foram recuperadas. Por isso, a produção de leite começa a decair e as vacas começam a ganhar peso, devido a sua preparação para o próximo parto. Na fase final, o peso dos bovinos estabiliza e marca o início do período de secagem. [56].

Devido as alterações na glândula mamária, atinge-se um máximo de produção após de 40 dias do parto, visto ao aumento do volume do tecido secretor. A partir desse momento, segue um declínio do volume de leite, à medida que a quantidade de componentes do leite aumenta. E sempre que o volume do leite diminui as concentrações do conteúdo nutricional aumenta. Outra relação denotada foi o estado de lactação e a época do ano, pois à medida que o ano progride da Primavera para o Inverno, a diferença entre rendimento e composição aumenta entre o estado inicial e tardio da lactação. Desta maneira, a propagação do parto ao longo do ano reduzirá as diferenças de composição obtendo assim uma distribuição mais uniforme e rendimento do produto. [57]

A inseminação também apresenta um papel importante na produtividade de leite. As primaras devem ser inseminadas ou cobridas após 70 dias do primeiro parto, enquanto as múltiparas entre 41 a 90 dias posterior ao parto. O tempo de secura é outro fator considerável, este deve ter um intervalo entre 45 a 60 dias, antes ou depois afeta a rentabilidade da produção. [58]

## **5. Fraudes no leite**

A fraude define-se como modificação da constituição original do produto, através da adição ou subtração de alguma substância. As práticas mais comuns na indústria do leite passam pela adição de água, adição de leite desnatado ou desnate do leite, ou o conjunto destas infrações. A adição de urina ou de conservantes, também se consideram como falsificações embora que sejam menos usuais como as práticas mencionadas anteriormente. [59]

### **5.1 Determinação de acidez**

A acidez natural do leite é proveniente de elementos como as proteínas (albumina e caseia), citratos, fosfatos e do dióxido de carbono. Porém, há uma acidez adquirida em consequência da transformação da lactose em ácido láctico. A determinação da acidez consiste na utilização de uma base para a titular uma determinada quantidade de leite, recorrendo a uso fenolftaleína como indicador. A determinação da acidez do leite é um dos parâmetros mais importantes para a compreensão do potencial e estado do leite, assim como o manuseio do leite, os cuidados na ordenha e aplicação de boas práticas de higiene. Quando os resultados de uma medição da acidez estão acima da média pode indicar-nos uma contagem elevada de microrganismos, devido da sua ação na lactose. Na indústria de queijos, a determinação da acidez é bastante relevante, em caso de queijos amanteigados o uso de leites com acidez baixa não é aconselhado, por causa da reologia e textura necessária. [60]

Em situações de fraude, a determinação de acidez revela-se um bom indicador para a determinação destes. A adição de água tem como o objetivo o aumento do volume do leite, desta maneira obtendo um lucro maior, em consequência a acidez tende a diminuir. Nestes casos, a densidade tende a diminuir e esta variação é facilmente detetável, para contornar esta deteção também é comum a utilização de leite desnatado, com o intuito de contrabalançar a densidade, porém a acidez tende a aumentar. [61]

## **5.2 Determinação de gordura**

É de grande interesse a determinação da parte lipídica do leite, já que a sua avaliação pertence à qualidade do leite. Algumas fraudes passam pela redução do valor nutricional e presença de substâncias prejudiciais à saúde. Outras caracterizam-se por a apresentação de um tipo de leite no rótulo sendo um leite diferente na realidade, como a desnatação do leite. No leite, a gordura está presente sob a forma de glóbulo na presença de uma camada de fosfolípidos. Na lei portuguesa, o leite não tem valores mínimos de gordura e apenas diferencia o leite em gordo, meio-gordo e magro.

## **5.3 Determinação do índice crioscópico**

Este teste baseia-se no ponto de congelação do leite. Os constituintes do leite modificam este ponto, como a lactose e cloretos que conduzem variações de 55% e 25% no ponto de congelação. Os intervalos de temperatura do ponto de congelação variam entre -0.512 a -0,550 graus celsius. Por isso, a medição deste valor demonstra bastante relevância porque valores mais próximos do zero apontam para adição de água. Apesar de ser um excelente teste, há variações nos resultados de acordo com a raça do bovino, tipo de dieta, estado de lactação, altura do ano e localização geográfica. Por exemplo, o fator da raça, alguns tipos de bovino produzem menores concentrações de teores sólidos e por consequência valores de congelação mais próximos da água, tirando conclusões erróneas sobre adição de água. A idade e o estado de lactação são outros fatores que modificam a composição do leite e da mesma forma o ponto crioscópico do leite. No verão, as temperaturas altas afetam consumo de alimento por parte das vacas, desta maneira menos proteína vai ser degradada no rúmen alterando a conteúdo do leite e assim aumentado o ponto de congelação. Por fim, uma avaliação na dieta dos bovinos é muito relevante para a compreensão do seu efeito nos valores finais, por exemplo, dietas de baixa qualidade podem afetar índices de crioscopia resultando em contagens de -0.480 graus celsius. [62]

## 5.4 Determinação da proteína

As falsificações no conteúdo proteico, resulta várias vezes da adição da ureia e de urina de bovino. Estas práticas têm o intuito de aumentar a proteína, pois a urina possui azoto na constituição e as análises avaliam a percentagem total de azoto modificando a perceção real da proteína. É uma preocupação na indústria visto a facilidade de obtenção da urina e o sistema de pagamento aos produtores contabilizar a percentagem de proteína presente no leite.[63]

A proteína é um dos maiores componentes do leite, contendo aproximadamente uma média 3,5% do total. A parcela proteica corresponde as caseínas e as proteínas do soro (lactoalbuminas e lactoglobulinas). A determinação da proteína é um processo de valor importante para trocas comerciais dos produtos lácteos. Os métodos de análise são divididos em três tipos: determinação total do azoto, determinação direta da proteína e determinação indireta da proteína. No primeiro tipo calcula-se o azoto total da amostra e depois multiplica-se pelo o fator de conversão (6.25), os métodos internacionais mais comuns neste modelo são o método Kjeldahl e o método Dumas. Ambos procedimentos são confiáveis e precisos, mas em contraste necessitam de técnicos qualificados e necessitam de algum material dispendioso. Na determinação direta é possível estipular quais as proteínas, para além da quantidade. Engloba vários métodos como: utilização de corantes, cromatografia, eletroforese e imunologia. Por último, os métodos indiretos correlacionados com os métodos espectroscópicos, que se destacam por serem rápidos e baixo custo, por isso adequados para ambientes de produção.





## **6. Objetivos do trabalho**

O estágio curricular pertencente ao ciclo de estudos do mestrado em Tecnologia e Ciência Alimentar tem como objetivo a inserção dos mestrandos em problemas associados as indústrias do processo agroalimentar.

O estágio efetuado num contexto fabril, mais especificamente a empresa Lacticínios Paiva S.A., compreende a aplicação de alguns conhecimentos apreendidos na primeira fase de estudos de mestrado e aquisição de experiência em contexto real. O principal objetivo é a caracterização do leite, desde da sua produção até ao início de produção de queijo, tendo isto em conta uma avaliação do ambiente pecuário.

Este estudo, tem como objetivo avaliar os diferentes constituintes de leite recebido na empresa lacticínios Paiva e a variação causada pelo o efeito de diferentes tipos de dieta provenientes de 6 produções. Para tal avaliação, prosseguiu-se da seguinte forma:

1- Foram selecionadas seis produções leiteiras, da zona de Barcelos e de Famalicão, onde as vacas demonstravam características semelhantes tal como a sua idade, estado de lactação, raça e estado de saúde.

2- Em cada produção, procedeu a avaliação do estado das instalações e de seguida fez-se um levantamento da informação sobre a composição da silagem de milho e da ração que é aplicada.

3- Por fim, foram feitas recolhas de amostras de leite representativas de cada produção para que fossem analisadas em quatro elementos do leite: proteína, gordura, índice crioscópico e acidez.

### **6.1 Materiais e métodos**

#### **6.1.1 Caracterização do estabelecimento**

A empresa de lacticínios caracteriza-se por ser um local de constante produção, estando aberta 24h por dia e recebendo uma média de 90.000 litros de leite por dia. O leite é recolhido da zona norte e litoral do país, dando ênfase a quatro zonas: Barcelos, Chaves, Famalicão e Tocha. A recolha do leite é feita por cisternas, que são encaminhadas para a empresa localizada em Lamego. O leite é

armazenado à temperatura de 4 graus, antes de sofrer um processo de termização, com o objetivo de eliminar a microbiota prejudicial à saúde e aumentar o prazo de vida do leite. Após este processo, o leite segue para uma das 24 cubas presentes na fábrica, assim para possibilitar a produção de um tipo de queijo previamente estabelecido. A produção apresenta uma capacidade para a elaboração de 24 queijos diferentes, incluindo ainda, queijos frescos e manteiga.

A empresa é certificada por vários sistemas de gestão de segurança alimentar, como a ISO 22000.

### **6.1.2 Recolha de informação**

Numa primeira fase foram avaliadas as 70 produções de leite associadas a empresa, de forma a escolher os estabelecimentos com o maior número bovinos leiteiros, para que se obtivesse uma maior diversidade de variáveis possível. Após da análise, selecionaram 20 bovinos com condições semelhantes, tal como, idade, estado de lactação, número de lactações, saúde. Com o intuito que possíveis variâncias e discrepâncias provocadas por estes fatores fossem diminuídas, para que os resultados correspondam mais à realidade exposta. Por fim, procedeu-se à visita das produções de leite para levantamento de informações relacionadas com o maior constituinte da dieta: silagem de milho.

### **6.1.3 Dados**

As produções selecionadas foram rotuladas de acordo com um número com o intuito de facilitar o tratamento de dados.

Os dados recolhidos de todas produções estão apresentados na seguinte tabela (tabela1).

**Tabela 1 – Características da Silagem de milho de acordo com a produção**

Produção	Silagem de Milho						
	Matéria Seca (%MS)	Proteína Bruta (%MS)	Fibra Neutro-Detergente (%MS)	Fibra Ácido-Detergente (%MS)	Amido (%MS)	Fibra Bruta (%MS)	Digestibilidade de matéria orgânica (UFL/kg MS)
1	34.5	6.11	44.1	26.2			68.6
2	63.8	6.9	36.6	23.3	37.2	18.8	74.3
3	30.8	7.29	43.6	25.5	30.6	20	70.2
4	38	4.75	38.2	24.5	41.9	19.8	71
5	32	6.7	41.5	21.5	37	20	71
6	30.6	6.2	46.2	26.9	30.6	22.1	72.2

As ordenhas das produções do estudo realizam-se duas vezes por dia, tendo em média cada produção 150 vacas.

#### **6.1.4 Recolha das amostras**

Procedeu-se à recolha de 63 amostras durante o período de janeiro a abril, três amostras por mês em seis produtores. Em cada colheita, a amostra era transferida do tanque para um tubo de 50 mL, para posterior avaliação no laboratório. As amostras foram mantidas a uma temperatura de 4 graus, durante o percurso até à fábrica.

#### **6.2 Análise físico-química**

No início do trabalho experimental, depois das amostras terem sido homogeneizadas e, efetuou-se as análises laboratoriais:

- Acidez
- Matéria gorda
- Proteína bruta
- Índice crioscópico

##### **6.2.1 Análise de acidez**

O procedimento recorreu ao uso da base hidróxido de sódio (0,1N) em 10 mL de leite, juntamente com 6 a 7 gotas da solução alcoólica de fenolftaleína a 1% no

leite, a titulação finalizou quando se atinge o cor-de-rosa persistente na mistura. Os resultados obtidos podem ser exprimidos graus Dornic ( $^{\circ}\text{D}$ ), tratando-se a acidez como igual ao volume de NaOH gasto, enquanto os graus Soxhlet-Henkel (S.H.) representa 1mL de NaOH em 100 mL de leite. Quanto maior for a acidez, menor será o pH e assim vice-versa. O leite de vaca deve-se situar entre 14 a 18 de volume de titulado de NaOH, enquanto o leite de cabra entre 13 a 18. Na legislação portuguesa, o volume limite estabelecido é de 21 ml de hidróxido de sódio, em leite para consumo.

### **6.2.2 Análise da matéria gorda**

O procedimento para análise da gordura foi seguido pelo o método gerber. Por isso recorreu-se ao uso do ácido sulfurico (0,1N) para dentro de um butirómetro, juntamente 10 mL de leite de forma cuidadosa. De seguida, adicionou-se 1 mL de álcool iso-amilico e fechou-se o butirómetro com uma tampa. Agitou-se a mistura para o homogeneizar o conteúdo e procedeu-se a introdução do tubo na centrífuga. O processo de centrifugação teve uma execução de cinco minutos à temperatura de 65 graus. Por fim, viu-se o valor obtido através da leitura onde se encontra a separação da gordura verificada no butirómetro. O resultado é expresso as gramas obtidas no butirómetro por 100 gramas de leite.

### **6.2.3 Índice crioscópico**

A análise do ponto de congelação do leite das amostras foi executada pelo Modelo 4D3 da Advanced Instruments, em que se emprega o método de depressão por ponto de congelamento (FPD) para a determinação da adição de água no leite. É utilizado para fornecer testes rápidos através do uso de 2,00-2,50 mL da amostra de leite. As amostras são processadas no curto espaço de tempo de 2 minutos. Os resultados variam de acordo o tipo de leite (vaca, cabra, ovelha) e alimentação aplicada. É usado para satisfazer as exigências como o HACCP, ISO 5764 e questões relacionadas com qualidade alimentar.

Os resultados obtidos são expressos em graus celsius da temperatura de congelação.

#### 6.2.4 Análise da proteína bruta

O procedimento para análise da proteína foi baseado na norma portuguesa de 1988. Esta análise denomina-se método Kjeldahl, no qual se determina o azoto total, incluindo orgânico e não orgânico. Em alguns alimentos, o conteúdo inorgânico é baixo e por isso pode ser ignorado. No caso do leite e restante produtos láteos, o fator de conversão é de 6,38 que se multiplica com o resultado obtido.

O tubo é aquecido com 15 mL ácido sulfúrico e 2g de uma mistura catalisadora. Estes tubos continuam para a unidade de digestão, durante uma hora até obtenção uma solução límpida. Procedeu posteriormente a repetir o processo para um branco.

Antes de iniciar-se o processo de destilação, é foi adicionado 15mL de água para dissolver amostra no tubo, de seguida este vai para a unidade de destilação. O amoníaco é libertado e arrastado por uma corrente de vapor à adição de 20 mL uma solução de hidróxido de sódio a 40%, que é arrastado por uma corrente de vapor quente. No bico do condensador, está presente um erlenmeyer tendo 10 mL de ácido bórico e 5 gotas de indicador. A destilação finaliza quando se atinge a cor verde e assim recolhe-se o erlenmeyer. E para finalizar, o amoníaco é titulado por ácido clorídrico de 0,2 N, o ponto de viragem é visualizado pela adição de 3 a 4 gotas de fenolftaleína.

O cálculo da proteína é feito de seguinte maneira:

$$\text{Proteína total (\%)} = V \times f \times 0,0014 \times 6,38 \times 100$$

V – Volume gasto na titulação

F – fator de conversão de  $\text{H}_2\text{SO}_4$



## 7. Tratamento estatístico

Todos os dados obtidos e recolhidos, foram codificados e informatizados no programa Microsoft Excel 2014. O tratamento estatístico dos resultados obtidos foi efetuado no *Statistica* 2015.

Os resultados de proteína e gordura são apresentados em percentagem, a acidez em graus Dornic e por fim índice crioscópico em graus celsius.

Para análise usou-se o teste do Qui-quadrado, para testar se, um determinado componente, a frequência com que os elementos da amostra se repartem pelas classes de uma variável qualitativa é ou não homogénea.

O nível de significância foi estabelecido como  $p < 0,05$ . Para avaliar o comportamento de variável de medida supostamente influenciada por um fator, ou efeito, com mais do que dois grupos, recorreu-se a análise de variância a 1 factor (ANOVA) quando verificados os pressupostos de normalidade nos grupos e ainda, da igualdade de variâncias entre esses grupos na característica numérica em estudo.





## 8. Resultados e Discussão

### 8.1 Resultados das análises físico-químicas do leite proveniente das diferentes produções

#### 8.1.1 Valores médios de proteína

Na tabela 2 estão presentes os resultados das análises laboratoriais para a proteína.

**Tabela 2 - Valores obtidos de % proteína das amostras do leite**

Produção	Janeiro			Fevereiro			Março			Abril			Média
1	3,36	3,46	3,43	3,48	3,37	3,23	3,46	3,43	3,45	3,45	3,42	3,37	3,409
2	3,39	3,33	3,34	3,27	3,2	3,19	3,26	3,23	3,22	3,23	3,19	3,2	3,254
3	3,34	3,34	3,3	3,34	3,26	3,29	3,33	3,33	3,34	3,29	3,34	3,33	3,319
4	3,22	3,29	3,24	3,25	3,23	3,2	3,23	3,25	3,25	3,29	3,29	3,24	3,248
5	3,14	3,34	3,34	3,27	3,45	3,14	3,13	3,23	3,26	3,25	3,08	3,31	3,226
6	3,46	3,44	3,42	3,45	3,37	3,41	3,42	3,44	3,44	3,37	3,37	3,22	3,401
Média	3,343			3,300			3,317			3,291			

Como se verifica, o mês de janeiro demonstrou a média mais alta entre os meses estudados, em detrimento a média mais baixa foi obtida no mês de abril. Embora que os resultados sejam bastante semelhantes entre si.

Como pode ser verificado, a média mais alta alcançada pertenceu a primeira sociedade, enquanto a quinta produção teve uma média de 3,22, sendo a mais baixa do estudo.

#### 8.1.2 Valores médios de gordura

As seguintes tabelas são resultantes das avaliações mensais e de cada produção estudada.

A tabela 3 apresenta os resultados em percentagem de gordura para cada avaliação, proveniente de cada produção durante os quatros meses estudados.

**Tabela 3 - Valores obtidos de % gordura das amostras do leite**

<b>Gordura</b>	<b>Janeiro</b>			<b>Fevereiro</b>			<b>Março</b>			<b>Abril</b>			<b>Média</b>
<b>1</b>	4,04	3,79	4,07	4,20	4,21	4,11	3,94	4,11	4,14	4,03	4,13	4,07	4,070
<b>2</b>	3,87	3,99	3,91	3,96	3,89	3,85	3,84	3,91	3,95	3,74	3,78	3,81	3,875
<b>3</b>	4,05	4,16	4,07	4,15	4,06	3,97	3,85	3,94	3,98	3,97	4,07	4,00	4,023
<b>4</b>	3,42	3,51	3,46	3,44	3,33	3,48	3,53	3,59	3,56	3,67	3,63	3,74	3,530
<b>5</b>	4,58	1,41	1,17	3,43	3,40	3,47	2,47	3,33	3,38	3,38	3,48	3,31	3,068
<b>6</b>	3,91	3,92	4,07	3,95	3,93	3,95	4,00	3,77	3,67	3,83	3,87	3,33	3,850
<b>Média</b>	3,633			3,821			3,720			3,769			

Após da obtenção dos resultados físico-químicos, procedeu-se avaliação de médias para a compreensão dos resultados. De acordo com a norma portuguesa 437-87, a maioria dos leites analisados estão considerados como leite gordo, exceto a algumas amostras da produção 5.

Em termos de médias mensais, o mês de fevereiro exibiu maior percentagem enquanto o mês de janeiro demonstrou menor percentagem de gordura. Embora os valores sejam idênticos entre os diferentes meses.

Como se verifica pela seguinte apresentação, a primeira produção posicionou-se em destaque entre as restantes, enquanto a quinta sociedade reportou a média mais baixa de gordura.

### **8.1.3 Valores médios do índice crioscópico**

Após da avaliação da gordura e a da proteína, foram feitas avaliações do índice crioscópico, ao nível mensal e individual.

A tabela 4 demonstra as avaliações dos quatro meses.

**Tabela 4 - Valores obtidos do índice crioscópico das amostras do leite**

Índice crioscópico	Janeiro			Fevereiro			Março			Abril			Média
1	528	522	529	534	523	526	526	527	528	529	527	522	526,8
2	524	524	521	530	524	519	527	520	523	528	526	522	524,0
3	526	529	526	533	525	526	523	525	527	516	525	519	525,0
4	534	532	525	535	531	530	532	531	529	530	534	530	531,1
5	533	533	532	529	527	536	531	524	535	531	534	526	530,9
6	527	528	526	529	528	528	525	531	534	527	532	529	528,7
<b>Média</b>	527,72			528,50			527,67			527,06			

Todos os meses mantiveram-se num espaço entre 527 a 528, sendo 527 o valor comum, exceto o mês de fevereiro que esteve acima da média.

A quarta produção apresentou valores de congelação do leite mais altos que as restantes produções, enquanto a segunda produção teve uma média de 524, sendo o valor mais baixo estando associado a menores teores de sólidos solúveis.

#### 8.1.4 Valores médios de acidez

Os resultados das medições da acidez ao leite são apresentados na seguinte tabela (tabela 5).

**Tabela 3 - Valores obtidos da acidez em volume de NaOH das amostras do leite**

Acidez	Janeiro			Fevereiro			Março			Abril			Média
1	17	17,5	17	17	17	17	17	15	16	16	17	17	16,7
2	16	16	17	16	15	16	15	16	16	15	16	17	15,9
3	17	17	16	16	17	17	16	17	17	16	16	17	16,6
4	17	17	17	17	17	16	17	16	17	16	17	17	16,8
5	18	17,5	17	17	17	17,5	17	17	17	18	17	17	17,3
6	18	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17,1
<b>Média</b>	17,0			16,6			16,5			16,6			

Todas amostras de leite estiveram dentro do limite considerado aceitável pela a portaria portuguesa 473-87, ou seja, valores menores de 20. Como pode ser relatado, a quinta sociedade detém leite com um maior nível de acidez em relação das restantes produções. Enquanto a segunda sociedade tem o nível de acidez menor, estes valores correlacionam-se com o índice crioscópico ser o mais baixo do estudo.

## 9. Influência de possíveis fatores nos resultados médios obtidos

De seguida, apresentam-se as médias das avaliações de janeiro a abril, alcançadas em cada produção, de acordo com a influência dos fatores em estudo

### 9.1 Influência do local de proveniência nas contagens médias das avaliações médias no leite

Na tabela 6 encontram-se os resultados médios e respetivos desvios padrões, dos valores das medidas avaliadas, de acordo com a produção.

**Tabela 6 - Médias e desvios padrões das contagens proveniente de cada produção**

Produção	N	Proteína %		Gordura %		Índice crioscópico		Acidez (volume NaOH)	
		Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
1	12	3,41	0,07	4,07	0,12	526,8	3,39	16,7	0,69
2	12	3,25	0,07	3,88	0,08	524,0	3,30	15,9	0,67
3	12	3,32	0,03	4,02	0,09	525,0	4,35	16,6	0,51
4	12	3,25	0,03	3,53	0,12	531,1	2,68	16,8	0,45
5	12	3,25	0,11	3,07	0,95	530,9	3,73	17,3	0,40
6	12	3,40	0,07	3,85	0,19	528,7	2,57	17,1	0,29
<b>P=</b>		<b>0,000</b>		<b>0,000</b>		<b>0,000</b>		<b>0,000</b>	

Com esta abordagem, tentou-se verificar se existem diferenças significativas entre as várias produções, e se sim, dessa maneira compreender se a nutrição influi discrepâncias. Desta maneira, para um nível de significância de 0.95, foram

verificadas diferenças significativas entre os quatro componentes avaliados. Ainda se apurou entre as quais se confirmou as disparidades.

Na seguinte tabela (tabela 7), apresenta-se os grupos homogéneos entre as produções em relação à proteína.

**Tabela 7 – Grupos homogéneos da proteína entre as diferentes produções**

1	3,409167	****	
2	3,254167		****
3	3,319167		****
4	3,248333		****
5	3,245000		****
6	3,400833	****	

Pode-se verificar que existem dois grupos distintos, o primeiro grupo onde se engloba a primeira e a última produção, e no segundo grupo onde se engloba as restantes produções.

Como foram encontradas diferenças significativas para a gordura entre as várias produções, a seguinte tabela (tabela 8) apresenta os diferentes grupos homogéneos em relação à gordura.

**Tabela 8 - Grupos homogéneos da gordura entre as diferentes produções**

1	4,070	****		
2	3,875	****		****
3	4,022	****		
4	3,530		****	****
5	3,067		****	
6	3,850	****		****

Após da análise compreendeu-se que existem três grupos diferentes em relação ao conteúdo da gordura no leite, ainda que algumas produções estejam incluídas em dois grupos simultaneamente. Em primeiro destaca-se, as produções 1, 2, 3 e 6 como primeiro grupo homogéneo devido não apresentarem diferenças significativas. No segundo grupo temos as produções 4 e 5 e por fim o terceiro

conjunto que envolve as produções 2, 4 e 6. Num estudo realizado no Brasil onde se fez a comparação de cinco rebanhos, sendo a silagem como o maior constituinte da alimentação, foram encontradas diferenças na gordura, sendo uma das razões apontadas a pureza genética. As vacas com maior percentagem de genes Holstein tendem a reduzir na percentagem dos valores de gordura, embora que estas se apresentem mais resistentes ao stress.

Os diferentes grupos para o índice crioscópico são apresentadas na seguinte tabela (tabela 9).

**Tabela 9 - Grupos homogéneos do índice crioscópico entre as diferentes produções**

1	526,7500	****	****	
2	524,0000	****		
3	525,0000	****	****	
4	531,0833			****
5	530,9167			****
6	528,6667		****	****

Em relação ao índice crioscópico foram encontrados três grupos homogéneos, sendo que algumas produções se encontram em dois grupos ao mesmo tempo como é o caso da primeira, terceira e sexta da produção. Por isso podemos encontrar no primeiro grupo, as três primeiras produções, o segundo grupo envolve a primeira, a terceira e sexta produção. E por fim, a quarta, quinta e sexta produção não se encontraram diferenças entre estes.

Por fim, as associações das produções de acordo com a acidez estão demonstradas na seguinte tabela (tabela 10).

**Tabela 10 - Grupos homogêneos da acidez entre as diferentes produções**

1	16,70833	****	****	
2	15,91667			****
3	16,58333	****		
4	16,75000	****	****	
5	17,25000		****	
6	17,08333	****	****	

No caso de acidez, a produção número 2 diferenciou-se das restantes produções. E ainda, dois grupos com três produções em comum.

## 9.2 Influência da estação nas contagens médias das avaliações médias no leite

Antes de se verificar se a possibilidade de diferenças significativas entre os diferentes meses, primeiro agrupou-se os quatro meses em dois grupos, janeiro com fevereiro e março com abril. O objetivo desta categorização relaciona-se com a diferença de temperaturas entre os dois grupos, visto que janeiro e fevereiro apresentam temperaturas mais baixas por se enquadrarem na época do Inverno, enquanto março e abril as temperaturas por norma, mais altas e sendo por isso um clima de primavera.

O resultado das avaliações entre as duas categorias apresenta-se na seguinte tabela (tabela 11).



**Tabela 11 - Médias e desvios padrões das contagens do leite de acordo com a estação**

Estação	N	Proteína %		Gordura %		Índice crioscópico		Acidez (volume NaOH)	
		Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Inverno	36	3,33	0,09	3,99	0,12	525,25	3,78	16,40	0,71
Primavera	36	3,30	0,10	3,48	0,64	530,22	3,15	17,03	0,43
<b>P=</b>		0,19		0,00		0,00		0,00	

A proteína foi o único componente que não demonstrou discrepâncias entre os dois grupos. A percentagem de gordura foi mais alta para a época do Inverno, indicando diferenças significativas entre os dois grupos. Enquanto nas restantes avaliações, as médias foram mais altas na época da Primavera, e da mesma maneira que a gordura, ostentado discrepância entre os dois grupos. Num estudo realizado na Nova Zelândia por Martin J. Auldist, Brian J. Walsh e Normon A. Thomson (1998), demonstrou-se que as vacas consomem menor volume matéria seca em épocas mais quentes, como verão e primavera causado pelo o stress térmico, por consequência de teores menores de sólidos solúveis [57].

### **9.2.1 Influência do mês de produção nas contagens médias das avaliações médias no leite**

Após efetuada a avaliação entre as duas épocas, procedeu a análise separadamente a cada mês, com o objetivo de uma compreensão mais avançada das diferenças consideradas significativas.

A tabela seguinte (tabela 12) apresentada expõe os resultados médios e respetivos desvios padrões das medidas avaliadas, pertence a cada mês.

**Tabela 12 - Médias e desvios padrões das contagens do leite de acordo com o mês**

Mês	N	Proteína %		Gordura %		Índice crioscópico		Acidez (volume NaOH)	
		Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
<b>Janeiro</b>	18	3,34	0,09	3,63	0,90	527,72	3,89	17,00	0,57
<b>Fevereiro</b>	18	3,30	0,10	3,82	0,31	528,50	4,40	16,69	0,62
<b>Março</b>	18	3,32	0,10	3,72	0,39	527,67	4,07	16,50	0,71
<b>Abril</b>	18	3,29	0,09	3,77	0,26	527,06	4,89	16,67	0,69
<b>P=</b>		0,38		0,75		0,80		0,14	

Como foi já referido no capítulo anterior, o janeiro apresentou as médias mais altas em termos de proteína e de acidez, porém a menor média em gordura. A gordura e o índice crioscópico exibiram valores médios mais altos no mês de fevereiro. Em contraste, o mês de abril ostentou as menores médias de proteína e de índice crioscópico.

Verificou-se a possibilidade de existência de diferenças significativas entre os meses estudados. Porém, não se confirmou esta teoria visto que nenhum dos componentes analisados apresentou um *p* significativo.

O governo Irlandês (2014) elaborou um estudo com intuito de compreender as alterações dos componentes do leite ao longo de diferentes meses. A percentagem de proteína desde junho até outubro aumentou, enquanto a lactose diminuiu assim como os micronutrientes, exceto o magnésio e o ferro.[42]

### 9.3 Influência da constituição da silagem de milho no leite

Com o intuito de averiguar a possibilidade da influência da silagem de milho na composição organolética do leite, procedeu-se à categorização através dos valores médios de cada constituinte. Desta maneira obteve-se a seguinte tabela (tabela 13):

**Tabela 13 - Categorização das amostras de acordo com as resultantes médias dos constituintes da silagem**

Constituinte	Categoria	Média
Matéria seca	1	$\geq 33,78$
	2	$< 33,78$
Proteína bruta	1	$\geq 6,78$
	2	$< 6,78$
Fibra bruta	1	$\geq 20,42$
	2	$< 20,42$
Fibra Neutro-Detergente	1	$\geq 41,70$
	2	$< 41,70$
Fibra Ácido-Detergente	1	$\geq 24,98$
	2	$< 24,98$
Amido	1	$\geq 35,15$
	2	$< 35,15$
Digestibilidade matéria orgânica	1	$\geq 71,22$
	2	$< 71,22$

Na tabela seguinte (tabela 14), encontram-se os resultados da avaliação do possível efeito da constituição da alimentação, de acordo com as médias categorizadas nos constituintes do leite.

**Tabela 14 - Efeito do constituinte da silagem na composição do leite**

Constituinte		N	Proteína %		Gordura %		Índice crioscópico		Acidez (volume NaOH)	
			Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Matéria seca	≥33,78	36	3,33	0,09	3,74	0,53	528,08	4,22	16,67	0,78
	<33,78	36	3,30	0,09	3,73	0,52	527,39	4,35	16,76	0,51
p=			0,19		0,93		0,49		0,54	
Proteína bruta	≥6,78	36	3,34	0,08	3,68	0,64	528,06	4,38	16,64	0,67
	<6,78	36	3,29	0,10	3,79	0,37	527,42	4,19	16,79	0,65
p=			0,04		0,40		0,53		0,33	
Fibra Bruta	≥20,42	24	3,29	0,10	3,80	0,39	527,38	4,60	16,85	0,65
	<20,42	48	3,33	0,09	3,71	0,58	527,92	4,13	16,65	0,66
p=			0,09		0,49		0,62		0,21	
Fibra Neutro-Detergente	≥41,70	36	3,30	0,10	3,74	0,56	527,56	4,42	16,82	0,59
	<41,70	36	3,32	0,09	3,73	0,49	527,92	4,16	16,61	0,72
p=			0,38		0,98		0,72		0,18	
Fibra Ácido-Detergente	≥24,98	48	3,30	0,10	3,75	0,51	527,54	4,16	16,78	0,60
	<24,98	24	3,34	0,08	3,72	0,55	528,13	4,55	16,58	0,76
p=			0,16		0,82		0,59		0,23	
Amido	≥35,15	36	3,32	0,09	3,73	0,49	527,92	4,16	16,61	0,72
	<35,15	36	3,30	0,10	3,74	0,56	527,56	4,42	16,82	0,59
p=			0,38		0,98		0,72		0,18	
Digestibilidade matéria orgânica	≥71,22	24	3,30	0,09	3,71	0,55	526,96	4,79	16,77	0,61
	<71,22	48	3,32	0,10	3,75	0,51	528,13	3,98	16,69	0,69
p=			0,49		0,78		0,28		0,62	

O primeiro constituinte da silagem a ser verificado foi a matéria seca. Após o agrupamento das produções acima e abaixo do valor 33,78, os resultados demonstraram que não existem diferenças significativas. A maior variação apenas se verificou na proteína.

A proteína bruta foi o constituinte que provocou mais diferenças no leite. A média de proteína das produções do grupo 1 foi de 3,34, enquanto a média do grupo 2 ficou-se por uma percentagem de 3,29. Foram encontradas diferenças

significativas para um nível de 0,95, embora esta variância não tenha sido encontrada para um maior nível de confiança (0,99). Apesar de não se denotarem discrepâncias consideráveis, a gordura exibiu uma média alta com o grupo 2.

A fibra bruta não provocou variâncias no índice crioscópico e na acidez, devido os seus resultados serem bastante semelhantes. A proteína destacou-se por apresentar diferenças significativas, mas apenas para um nível de confiança mais baixo (0,90). A fibra representa um papel muito importante na manutenção do rúmen, visto que influencia bastante a gordura no leite. Esta fornece os hidratos de carbono necessários para a fermentação.

Tanto a fibra detergente-neutro como a fibra ácido-neutro, não encontraram diferenças significativas para nenhum dos componentes analisados. Ainda a destacar que a média da proteína atingida pelo grupo 2 na fibra ácido-neutro foi a mais alta entre todos os grupos testados.

O amido sendo uma reserva energética e um constituinte muito importante na alimentação, não apresentou demonstrou que a variação entre os dois grupos experimentados.

Por fim, a digestibilidade da matéria orgânica que representa a percentagem do conteúdo possível do total que possa ser metabolizado pelos bovinos na digestão. Não se verificou disparidades consideradas significativas entre os grupos acima e abaixo do valor médio.



## 10. Conclusão

Após realizada a amostragem e a execução laboratorial, podemos retirar algumas indicações como o mês de janeiro demonstrar ostentar as maiores percentagens de proteína e de acidez, enquanto a percentagem de gordura e o índice crioscópico demonstraram valores mais altos no mês de fevereiro.

Verificou-se a influência de vários potenciais fatores nos resultados: local de proveniência, o mês e estação de recolha e variação de cada componente da silagem de milho de origem de cada produção.

Entre as duas estações presentes no estudo, foram encontradas diferenças significativas para a maioria dos componentes avaliados expeto para a proteína. Procedeu-se para a análise separada para cada mês e não se descobriu discrepâncias entre estes.

Entre as produções também se verificou várias discordâncias consideradas significativas para todos os elementos analisados, sendo os fatores semelhantes entre as produções, estudou-se a alimentação como fator de variação.

Apenas se verificou diferenças significativas para na proteína entre os dois grupos da fibra bruta e a proteína bruta da silagem de milho, os restantes constituintes da silagem não se foram verificadas diferenças significativas.





## 11. Bibliografia

- [1] IFCN Dairy Report, “Global Dairy Sector: Status and Trends,” p. Chapter 2.2 and 2.5, 2014.
- [2] “Produção de leite.INE,” 2016. [Online]. Available: [https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_indicadores&indOcorrCod=0000919&contexto=bd&selTab=tab2](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000919&contexto=bd&selTab=tab2). [Accessed: 03-Nov-2017].
- [3] P. P. Cortez, “Bovinos de leite,” 2008.
- [4] A. R. H. Frísia, “A Raça Holstein Frísia,” 2008. [Online]. Available: <http://www.apcrf.pt/gca/?id=147>. [Accessed: 20-Nov-2017].
- [5] Parlamento Europeu, “Regulamento (CE) N<sup>o</sup> 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de Abril de 2004,” *J. Of. da União Eur.*, vol. 139, pp. 1–51, 2004.
- [6] Robinson R.K. and A.Y.Tamime., *In Dairy Microbiology – The Microbiology of Milk Products*. 1990.
- [7] “Instituto Ricardo Jorge,” 2017. [Online]. Available: <http://portfir.insa.pt/foodcomp/food?13>. [Accessed: 28-Nov-2017].
- [8] W. Xinmin, Z. Ruili, L. Zhihua, W. Yuanhong, and J. Tingfu, “Determination of glucosamine and lactose in milk-based formulae by high-performance liquid chromatography,” *J. Food Compos. Anal.*, vol. 21, no. 3, pp. 255–258, 2008.
- [9] M. Ammam and J. Fransaer, “Two-enzyme lactose biosensor based on  $\beta$ -galactosidase and glucose oxidase deposited by AC-electrophoresis: Characteristics and performance for lactose determination in milk,” *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 148, no. 2, pp. 583–589, 2010.
- [10] R. G. Jensen, “The Composition of Bovine Milk Lipids: January 1995 to December 2000,” *J. Dairy Sci.*, vol. 85, no. 2, pp. 295–350, 2002.
- [11] A. Haug, A. T. Høstmark, and O. M. Harstad, “Bovine milk in human nutrition - A review,” *Lipids Health Dis.*, vol. 6, pp. 1–16, 2007.
- [12] W. N. Eigel, C. J. Hofmann, B. a Chibber, J. M. Tomich, T. W. Keenan, and E. T. Mertz, “Plasmin-mediated proteolysis of casein in bovine milk,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 76, no. 5, pp. 2244–2248, 1979.
- [13] K. Shin *et al.*, “Effects of orally administered bovine lactoferrin and lactoperoxidase on influenza virus infection in mice,” *J. Med. Microbiol.*, vol. 54, no. 8, pp. 717–723, 2005.

- [14] F. Poffo and M. Adonai, “Caracterização taxonômica e fisiológica de bactérias ácido-láticas isoladas de pescado marinho Taxonomic and physiological characterization of lactic acid bacteria isolated from seafood,” vol. 2010, no. 003744, pp. 303–307, 2011.
- [15] L. De Vuyst, “Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry,” vol. 15, pp. 67–78, 2004.
- [16] M. De Vrese, “Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition 1–3,” vol. 73, no. May, 2001.
- [17] L. M. T. Dicks and M. Botes, “Probiotic lactic acid bacteria in the gastro-intestinal tract: Health benefits, safety and mode of action,” *Benef. Microbes*, 2010.
- [18] W. H. Hoover, “Chemical Factors Involved in Ruminal Fiber Digestion,” *J. Dairy Sci.*, vol. 69, no. 10, pp. 2755–2766, 1986.
- [19] F. A. Barbosa, “ALIMENTOS NA NUTRIÇÃO DE BOVINOS,” 2004. [Online]. Available:  
[http://www.agronomia.com.br/conteudo/artigos/artigos\\_nutricao\\_bovinos.htm](http://www.agronomia.com.br/conteudo/artigos/artigos_nutricao_bovinos.htm).  
[Accessed: 20-Jun-2018].
- [20] “Água de Qualidade Adequada para Alimentação Animal,” 2014.
- [21] M. I. Leão *et al.*, “Consumos e digestibilidades totais e parciais de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta e extrato etéreo em novilhos submetidos a três níveis de ingestão e duas metodologias de coleta de digestas abomasal e omasal,” *Rev. Bras. Zootec.*, vol. 33, no. 6, pp. 1604–1615, 2004.
- [22] S. R. Medeiros, R. da C. Gomes, and D. J. Bungenstab, *Nutrição de bovinos de corte Fundamentos e aplicações*. 2015.
- [23] National Research Council Committee on Dietary Allowances, *Recommended dietary allowances*, vol. 10. 1989.
- [24] A. L. Moreira *et al.*, “Produção de Leite , Consumo e Digestibilidade Aparente dos Nutrientes , pH e Concentração de Amônia Ruminal em Vacas Lactantes Recebendo Rações Contendo Silagem de Milho e Fenos de Alfafa e de Capim- Coastcross,” *Rev. Bras. Zootec.*, vol. 30, no. 3, pp. 1089–1098, 2001.
- [25] J. C. de Sousa, *Aspectos da suplementação mineral de bovinos de corte*. 1981.

- [26] L. Prosky, "What is dietary fiber?," *J. AOAC Int.*, vol. 83, no. 4, pp. 985–987, 2000.
- [27] W. Bianchini, É. Rodrigues, J. Mendes, and C. Andricheto, "Importância da fibra na nutrição de bovinos . ( Fiber importance on cattle nutrition )," *Redvet*, 2007.
- [28] A. D. M. Zanine and G. D. L. Macedo Júnior, "Importância do consumo da fibra para nutrição de ruminantes," *Rev. Electrónica Vet.*, vol. VII, no. 4, pp. 1–11, 2006.
- [29] S. Mineiro, "Fibra Alimentar: composição, métodos e implicações alimentares," 2014.
- [30] Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes, Luiz Henrique Xavier da Silva, and Kennyson Alves de Souza, *Alimentos E Alimentação Animal*, no. March. 2013.
- [31] A. D. A. Rodrigues and R. Godoy, "Efeito do pastejo restringido em aveia sobre a produção de leite," *Pesqui. Agropecu. Bras.*, 2000.
- [32] W. H. D. . Buso, H. S. . Morgado, L. B. . Silva, and A. F. S. França, "Utilização do sorgo forrageiro na alimentação animal," *PUBVET*, vol. 5, no. 23, pp. 1–29, 2011.
- [33] A. M. A. Dias, Â. M. V. Batista, M. D. A. Ferreira, M. D. A. Lira, and I. B. M. Sampaio, "Efeito do Estádio Vegetativo do Sorgo (*Sorghum bicolor*, (L.) Moench) sobre a Composição Química da Silagem, Consumo, Produção e Teor de Gordura do Leite para Vacas em lactação, em Comparação à Silagem de Milho (*Zea mays* (L.)), " *Rev. Bras. Zootec.*, vol. 30, no. 6, pp. 2086–2092, 2001.
- [34] E. R. Gouveia, R. T. do Nascimento, A. M. Souto-Maior, and G. J. de M. Rocha, "Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar," *Quim. Nova*, vol. 32, no. 6, pp. 1500–1503, 2009.
- [35] R. V. Santos, A. R. Evangelista, J. C. Pinto, C. C. de C. Couto Filho, and R. M. de Souza, "Composição química da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) E das silagens com diferentes aditivos em duas idades de corte," *Ciência e Agrotecnologia*, vol. 30, no. 6, pp. 1184–1189, 2006.
- [36] G. A. R. Macêdo, É. L. Costa, M. C. M. Viana, J. J. Ferreira, J. F. Pires, and F. M. Freire, "Características agronômicas e químicas das variedades de cana-

- de-açúcar RB83-5486 e RB86-7515 sob irrigação e sequeiro Agronomic and chemical characteristics of RB83-5486 and RB86-7515 sugarcane varieties under irrigated and rainfed conditions,” no. 31, pp. 599–603, 2012.
- [37] H. D. A. Córdova, “Utilização de cevada em substituição ao milho em dietas para vacas holandesas de alta produção,” 2004.
- [38] W. Z. Yang, K. A. Beauchemin, K. M. Koenig, and L. M. Rode, “Comparison of Hull-less Barley, Barley, or Corn for Lactating Cows: Effects on Extent of Digestion and Milk Production,” *J. Dairy Sci.*, vol. 80, no. 10, pp. 2475–2486, 1997.
- [39] M. C. D. Paes, “Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho.,” *EMBRAPA.Circular Tec.* 75, 2006.
- [40] L. G. Nussio, F. P. De Campos, and F. N. Dias, “Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho,” *Simpósio Sobre Produção e Util. Forragens Conserv.*, pp. 1–17, 2001.
- [41] A. S. De Oliveira *et al.*, “Substituição do milho por casca de café ou de soja em dietas para vacas leiteiras: Consumo, digestibilidade dos nutrientes, produção e composição do leite,” *Rev. Bras. Zootec.*, vol. 36, no. 4 SUPPLEMENT, pp. 1172–1182, 2007.
- [42] E. Ozrenk and S. S. Inci, “The effect of seasonal variation on the composition of cow milk in Van Province,” *Pakistan J. Nutr.*, vol. 7, no. 1, pp. 161–164, 2008.
- [43] J. Cerbulis and H. M. Farrell, “Composition of milks of dairy cattle. I. Protein, lactose, and fat contents and distribution of protein fraction.,” *J. Dairy Sci.*, vol. 58, no. 6, pp. 817–827, 1975.
- [44] D. S. Torezzetti, M. B. N. Bataier, L. R. de Almeida, and A. Piccinin, “Prevenção, Controle E Tratamento Das Mastites Bovinas – Revisão De Literatura,” *Rev. Científica Eletrônica Med. Veterinária*, vol. 10, p. 7, 2008.
- [45] M. V. SANTOS and M. V. DOS SANTOS, “Efeito da mastite sobre a qualidade do leite e dos derivados lácteos,” 2002. [Online]. Available: <https://www.milkpoint.com.br/colunas/marco-veiga-dos-santos/efeito-da-mastite-sobre-a-qualidade-do-leite-e-dos-derivados-lacteos-parte-1-16229n.aspx>. [Accessed: 23-Jun-2018].
- [46] H. Ogola, A. Shitandi, and J. Nanua, “Effect of mastitis on raw milk

- compositional quality,” *J. Vet. Sci.*, vol. 8, no. 3, pp. 237–242, 2007.
- [47] P. F. Barbosa, G. Maria, J. Ladeira, and R. Andrade, “Causas de Variação da Produção de Leite em um Rebanho da Raça Holandesa em São Carlos, SP,” *Rev. Bras. Zootec.*, vol. 28, no. n.5, pp. 974–981, 1999.
- [48] J. W. Savell and H. R. Cross, *Designing Foods*. 1988.
- [49] K. F. Kalscheur, R. L. Baldwin, B. P. Glenn, and R. A. Kohn, “Milk Production of Dairy Cows Fed Differing Concentrations of Rumen-Degraded Protein,” *J. Dairy Sci.*, vol. 89, no. 1, pp. 249–259, 2006.
- [50] F. Gaucheron, “The minerals of milk,” *Reprod. Nutr. Dev.*, vol. 45, no. 4, pp. 473–483, 2005.
- [51] W. S. Marçal, “O edema de mama em bovinos leiteiros O edema de mama em bovinos leiteiros Udder edema in dairy cattle,” *Semin. Ciências Agrárias*, 2006.
- [52] R. Campos, F. González, A. Coldebella, and L. Lacerda, “Determinação de corpos cetônicos na urina como ferramenta para o diagnóstico rápido de cetose subclínica bovina e relação com a composição do leite,” *Arch. Vet. Sci.*, 2005.
- [53] T. L. Mader, L. J. Johnson, and J. B. Gaughan, “A comprehensive index for assessing environmental stress in animals,” *J. Anim. Sci.*, vol. 88, no. 6, pp. 2153–2165, 2010.
- [54] J. W. West, B. G. Mullinix, and J. K. Bernard, “Effects of hot, humid weather on milk temperature, dry matter intake, and milk yield of lactating dairy cows,” *J. Dairy Sci.*, vol. 86, no. 1, pp. 232–242, 2003.
- [55] F. T. Olszensvski, “Avaliação do ciclo de vida da produção de leite em sistema semi extensivo e intensivo: estudo aplicado,” p. 198, 2011.
- [56] P. F. Barbosa *et al.*, “Vacas em Lactação.” [Online]. Available: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/LeiteSudest e/alimentacao/lactacao.html>. [Accessed: 15-Dec-2017].
- [57] M. J. Auldist, B. J. Walsh, and N. A. Thomson, “Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand,” *J. Dairy Res.*, vol. 65, no. 03, pp. 401–411, 1998.
- [58] A. M. Rodrigues, J. Guimarães, and C. Oliveira, “Rentabilidade das explorações leiteiras em Portugal - dados técnicos e económicos Resumo Introdução,” vol. 129, pp. 30–31, 2012.

- [59] M. R. ABRANTES, C. da S. CAMPÊLO, and J. B. A. da SILVA, “Fraude em leite: Métodos de detecção e implicações para o consumidor,” *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, vol. 73, no. 3, 2014.
- [60] M. De Marchi *et al.*, “Prediction of coagulation properties, titratable acidity, and pH of bovine milk using mid-infrared spectroscopy,” *J. Dairy Sci.*, vol. 92, no. 1, pp. 423–432, 2009.
- [61] M. F. P. G. Pinto, “Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica de leite pasteurizado produzido por microempresas em Alagoas, Brasil,” p. 73, 2011.
- [62] M. V. dos Santos, “Variações X Fraudes,” *Inforleite*, pp. 52–54, 2012.
- [63] A. A. Rosa-Campos, J. E. S. Rocha, L. A. Borgo, and M. A. Mendonça, “AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E PESQUISA DE FRAUDES EM LEITE PASTEURIZADO INTEGRAL TIPO “ C ” PRODUZIDO NA REGIÃO DE BRASÍLIA , DISTRITO FEDERAL Physical-chemical evaluations and research fraud in integral pasteurized type “ C ” produced in Brasília , Federal,” *Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”, Mar/Abr*, vol. 66 n° 379, pp. 30–34, 2011.